

بسم ا الرحمن الرحيم

المملكة العربية السعودية

وزارة التعليم العالى

جامعة الملك سعود

كلية علوم الأغذية والزراعة

التأثيرات الإبادية والسمية لمستخلصات العشار والعرعر والجتجات النامية في المملكة العربية السعودية

رسالة

مقدمة إلى قسم وقاية النبات بكلية علوم الأغذية والزراعة ضمن متطلبات الحصول على درجة الماجستير في العلوم تخصص مبيدات

إعداد الطالب

هتان بن أ د بن فا ا ر

إشراف

الأستاذ الدكتور/ ضيف ا بن هادي الراجحي

أستاذ علم السموم

كلية علوم الأغذية والزراعة

(١٤٢٥هـ_٢٠٠٤م)

الملخص

تعتبر نباتات العرعر *Juniperus procera* والجتجات *Lavandula dentata* من مصادر الزيوت الأساسية النباتية التى تحوى المركبات المتطايرة والتى لبعضها فعالية تجاه العديد من المسببات المرضية للإنسان والحيوان والنبات بالإضافة إلى فعاليتها تجاه الحشرات وغيرها من الآفات كمواد طاردة وقاتلة ومانعة للتغذية ، كما تتميز معظم هذه المركبات بإنخفاض سميتها للثدييات. أما نبات العشار *Calotropis procera* فيحتوى على مركبات الكاردينوليد التابعة لمجموعة الجليكوسيدات القلبية التى تؤثر على القلب عن طريق التأثير على نشاط إنزيم الأدينوسين ثلاثي الفوسفات الناقل لأيونات الصوديوم والبوتاسيوم، هذا بالإضافة الى فعالية النبات تجاه العديد من الآفات الزراعية .

تم إستخلاص الزيوت الأساسية من نباتي العرعر والجتجات عن طريق التقطير التجزيئي بالماء المقطر ، حيث كان الناتج من الإستخلاص للعرعر١,٢٪ وللجتجات١,٤٪وزن/وزن، ثم إجراء الفحص الكيميائيى لهذه الزيوت بإستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز/مطياف الكتلة حيث وجد في نبات العرعر ٢٧ مركباً تنتمي الى مجموعتى (monoterpenoids 52.59%, seqsuiterpenoids 40.86%)
وكانت المركبات الرئيسة:

α-pinene 22.7%, careen 21%, α-humelen 12.41%, caryophyllene 10.22%, germacrene-D 9.73%

أما من نبات الجتجات فقد تم عزل ٢٦ مركبا تنتمي الى مجموعتى
(monooterpenoids 68.9%, sesquiterpenoids 5%) وكانت المركبات الرئيسة:

camphor 45%, α-fenchone 13.4%

كما تم عزل المجزء F_{211} من المستخلص الخام لزيت العرعر بإستخدام طريقة كروماتوغرافيا السائل منخفض الضغط ووجد أنه يحوي مركبات

Elemol 51.6%,γ-Eudesmol 15.9%,β-Eudesmol 13.2%,α-Eudesmol 19.2%

ومن نبات العشار تم عزل المجزء F_1 من العينة الأولى ووجد أنه يحوي ٩ مركبات من مجاميع مختلفة وهي

Linoleic acid-- α-Tocopherol-- D:C-Friedoolean-8-en-ol-- ergost-5-en-3,β-ol-- β-Sitosterol-- Stigmasta-5,24(28)-dien-3,β-ol,(E)-- Lup-20(29)-en-3-one-- Cycleucaleno-- Lupeol

ومن العينة الثانية لنبات العشار تم عزل مجزءات تحوي مركبات الكاردينوليد بإستخدام عمود الكروماتوغرافي وعرفت بإختبار الكشف عن مركبات الجليكوسيدات القلبية Kedde positive وهي $F_{111,112,113}$ بالإضافة الى باقي المجزءات $F_{110,115,116}$ السالبة للإختبار Kedde negative.

وقد أظهرت إختبارت الفعالية الحيوية أن جميع المستخلصات والمجزءات لم تعطى أية فعالية تجاه أى نوع من أنواع البكتيريا المستخدمة في الإختبار عند تركيز ١٠٠٠جزء في المليون. بينما أعطت المستخلصات والمجزءات فعالية متباينة تجاه أنواع الفطريات المستخدمة إلا أنها لاتعتبر فعالة عند التركيز ١٠٠٠جزء في المليون حيث كانت أعلى نسبة تثبيط للمجزء F_1 على فطر *R.solani* بمقدار ٨٢٪.

أما عند تحديد الفعالية على الطور اليرقي الثاني (العمر الثاني) لبعوض *Culex pipiens* بحساب التركيز النصفي القاتل وجد لمستخلص الخام لزيت العرعر فعالية بتركيز ٨٢,٥٥ جزء في المليون، كما تم عزل المجزء F_{211} الذى أزيح بالبتروليم إيثر ٢٥٪/ الأيثر وأعطى أعلى فعاليه بالمقارنة بباقي المجزءات وكانت فعاليته بتركيز ٣٩,٥ جزء في المليون ، كما أعطى المجزء F_1 فعالية بمقدار ٣٠ جزء في المليون وأيضا المجزء F_{112} (الذى يمثل مركبات الكاردينوليد) والمعزول أيضا من العشار أعطى فعالية بمقدار ١٣,٦جزء في المليون ولم تعطى المجزءات $F_{110,115,116}$ فعالية عند تركيز ١٠٠جزء في المليون ، كما لم يعطى مستخلص الزيت لنبات الجنجات فعالية عند التركيز ١٠٠٠جزء في المليون.

بينما كانت الفعالية على القواقع الزراعية من نوع *Thepa pisana* بحساب الجرعة النصفية القاتلة حيث كانت فعالية المجزء F_{112} بمقدار ٧,٨مجم/كجم في حين كانت لمبيد اللانيت (ميثوميل ٩٠٪) ٣٠,٩مجم/كجم ، و لم تعطى المجزءات $F_{1,115,116}$ فعالية عند الجرعات المستخدمة بالإضافة الى المستخلصات الزيتية للعرعر والجنجات والتى لم تعطى فعالية عند ٢٥٠مجم/كجم .

ومن نتائج إختبارات التقييم السمي على ذكور فئران التجارب وجد أن الجرعة النصفية القاتلة لنبات العشار للمجزءات $F_{111.112.113}$ والتى تحوى مركبات الكاردينوليد أقل من ٣٠مجم/كجم وكانت أعراض التسمم والموت لهذه المجزءات هي إرتعاشات وعملية تنفس غير طبيعية وقبل الموت صعق شديد وحدوث الموت خلال ١٥-٣٥ دقيقة . أما باقي المجزءات $F_{1,110,115,116}$ فكانت الجرعة النصفية القاتلة أعلى من ٣٠مجم/كجم إلا أن الجرعة النصفية القاتلة للمجزء F_{112} كانت ٧,١ مجم/كجم مما يظهر سميته العالية على الثدييات . وكانت الجرعة النصفية القاتلة لمستخلص نبات العرعر الزيتي أعلى من ١٥٠٠ مجم/كجم.

فيما لم يعطى المجزء F_{112} تأثير على نشاط الأسيتايل كولين إستيريز داخل الجسم الحي على الفئران و القواقع بجرعات ٢٠-١٩ مجم/كجم على التوالى. بالإضافة الى المستخلص الخام لزيت العرعر والذى لم يظهر له أى تأثير عند الجرعة ١٠٠٠مجم/كجم.

وكذلك لم يعطى المجزء F_{112} تأثير على نشاط الأدينوسين ثلاثي الفوسفاتيز في القواقع داخل الجسم الحي بجرعة ١٩ مجم/كجم وخارج الجسم الحي بتركيز ١x١٠$^{-٣}$ مولار. أما على مخ ذكور الفئران الصغيرة فكان التركيز اللازم لتثبيط ٥٠٪ من نشاط الأنزيم I_{50} للمجزء خارج الجسم الحي ٢,٢x١٠-٤ مولار (خارج الجسم الحي) بالمقارنة مع مركب Ouabain حيث كان التركيز اللازم لتثبيط ٥٠٪ من نشاط الأنزيم داخل الجسم الحي ١١,٧٣مجم/كجم .

فهرس المواضيع

الموضوع الصفحة

شكر وتقدير

الملخص باللغة العربية

الفهرس

١-المقدمة..١

٢-الدراسات السابقة

٢-١ الدراسات السابقة لنبات العرعر *J.procera*.................٣

٢-٢ الدراسات السابقة لنبات الجتجات *L.dentata* ١٣

٢-٣ الدراسات السابقة لنبات العشار *C.procera* ٢٣

٢-٤ مركبات الجليكوسيدات القلبية Cardiac glycosides......٣٨

٢-٤-١ التركيب الكيميائي للجليكوسيدات القلبية.................٣٩

٢-٤-٢ سمية الجليكوسيدات القلبية..............................٤٣

٣-المواد وطرق العمل

٣-١ المواد..٤٧

٣-١-١ جمع العينات النباتية.......................................٤٧

٣-١-٢ المواد الخاصة بطرق الفصل Chromatography ٤٧

٣-١-٣ الأجهزة ٤٨

٣-١-٤ كائنات الإختبار المستخدمة...............................٤٩

٣-٢ طرق العمل..٥١

٣-٢- ١ الإستخلاص..٥١

٣-٢-١-١ إستخلاص وعزل الزيوت الأساسية essential oils

من نباتي العرعر والجتجات..................................٥١
٣-٢-١-٢ تجزيء المركبات Fractionation لخام
مستخلص الزيت لنبات العرعر ٥١
٣-٢-١-٣ إستخلاص المركبات الكيميائية من نبات العشار ٥٢
٣-٢-١-٤ عزل وتجزيء Fractionation مركبات
الكاردينوليد من نبات العشار ٥٤
٣-٢-٢ إختبارات التقييم الحيوي......................................٥٥
٣-٢-٢-١ البكتيريا...٥٥
٣-٢-٢-٢ الفطريات..٥٥
٣-٢-٢-٣ البعوض ٥٦
٣-٢-٢-٤ القواقع الأرضية.......................................٥٧

٣-٢-٣ إختبارات التقييم السمي......................................٥٨
٣-٢-٣-١ إختبار الجرعة النصفية القاتلة LD_{50}..................٥٨
٣-٢-٣-٢ إختبار نشاط إنزيم الأسيتايل كولين.....................٥٨
٣-٢-٣-٣ إختبار نشاط ATPase...............................٥٩

٤- النتائج والمناقشات
٤-١إستخلاص وعزل الزيوت الأساسية من نباتي العرعروالجتجات.٦١
٤-٢ تجزيء المركبات لخام مستخلص الزيت لنبات العرعر........٧٣
٤-٣ إستخلاص المركبات الكيميائية من نبات العشار ٧٧
٤-٤ عزل وتجزيء مركبات الكاردينوليد من نبات العشار ٨٣
٤-٥ إختبارات التقييم الحيوي..٩١
٤-٦ إختبارات التقييم السمي ١٠٢
المراجع...١٠٧
الملخص باللغة الإنجليزية

قائمة الأشكال

رقم الشكل		الصفحة
١	التحول الكيميائي لمركب Uscharin	٤٣
٢	نبات العرعر *Juniperus procera*	٤٥
٣	نبات الجتجات *Lavandula dentata*	٤٥
٤	نبات العشار *Calotropis procera*	٤٦
٥	الكروماتوغرام الأيوني الكلي لمستخاص الزيت لنبات الجتجات	٦٣
٦	الكروماتوغرام الأيوني الكلي لمستخاص الزيت لنبات العرعر	٦٣
٧	مطياف الكتلة لمركب α-pinene	٧٠
٨	مطياف الكتلة لمركب 3-Carene	٧٠
٩	مطياف الكتلة لمركب Caryophyllene	٧١
١٠	مطياف الكتلة لمركب α-Humulene	٧١
١١	مطياف الكتلة لمركب α-Fenchone	٧٢
١٢	مطياف الكتلة لمركب Camphor	٧٢
١٣	الكروماتوغرام الأيوني الكلي للمجزء F_{211} المعزول من نبات العرعر	٧٤
١٤	مطياف الكتلة لمركب Elemol	٧٥
١٥	مطياف الكتلة لمركب γ-Eudesmol	٧٥
١٦	مطياف الكتلة لمركب β-Eudesmol	٧٦
١٧	مطياف الكتلة لمركب α-Eudesmol	٧٦
١٨	الكروماتوغرام الأيوني الكلي للمجزء F_1 المعزول من نبات العشار	٧٧
١٩	مطياف الكتلة لمركب Linoleic acid	٧٩
٢٠	مطياف الكتلة لمركب α-Tocopherol	٧٩
٢١	مطياف الكتلة لمركب D:C-Friedoolean-8-en-ol	٨٠

٢٢ مطياف الكلتلة لمركب Ergost-5-en-3,β-ol..................................٨٠
٢٣ مطياف الكتلة لمركب β-Sitosterol..٨١
٢٤ مطياف الكتلة لمركب Stigmasta-5,24(28)-dien-3,β-ol,(E..............٨١
٢٥ مطياف الكتلة لمركب Lup-20(29)-en-3-one..............................٨٢
٢٦ مطياف الكتلة لمركب Cycloeucalenol.....................................٨٢
٢٧ مطياف الكتلة لمركب Lupeol...٨٣
٢٨ التقدير اللوني لمركبات الكاردينوليد في نبات العشار ٨٧
٢٩ مراحل عزل وإستخلاص المجزء F_1 من المادة اللبنية
للعينة رقم ١ لنبات العشار...٨٨
٣٠ مراحل عزل وإستخلاص مجموعة الكاردينوليد من المادة اللبنية
للعينة رقم٢ لنبات العشار...٨٩
٣١ ملخص لتجزىء المادة النقية الخام من العينة رقم ٢ لنبات العشار..............٩٠
٣٢ تأثير المستخلصات النباتية على فطر *D.mangeferae*.......................٩٤
٣٣ قوقع سليم من نوع *T.pisana*...١٠٠
٣٤ مظهر قوقع *T.pisana* نتيجة للتعرض لمبيد اللانيت (ميثوميل٩٠٪).........١٠١
٣٤ مظهر قوقع *T.pisana* نتيجة للتعرض للمجزء F_{112} (الكاردينوليد)...........١٠١

قائمة الجداول

رقم الجدول		الصفحة
١	محتوى نبات العرعر *J.procera* من الزيوت الأساسية	٣
٢	محتوى نبات الجنجات *L.dentata* من الزيوت الأساسية	١٣
٣	الدراسات الإبادية (التقييم الحيوي) لنبات العشار	٢٦
٤	مركبات مجموعة الكاردينوليد المعزولة من نبات العشار.......................	٤٠
٥	السمية الحادة لمركبات الكاردينوليد على القطط بالحقن الوريدي..............	٤٤
٦	نتائج تحليل الزيوت الأساسية لنبات العرعر بإستخدام جهاز GC/MS.......	٦٤
٧	نتائج تحليل الزيوت الأساسية لنبات الجنجات بإستخدام جهاز GC/MS......	٦٧
٨	نتائج تحليل الزيوت الأساسية للمجزء F_{211} المعزول من نبات العرعر بإستخدام جهاز GC/MS	٧٤
٩	نتائج تحليل المركبات الكيميائية للمجزء F_1 المعزول من العشار بإستخدام جهاز GC/MS	٧٨
١٠	نسب تثبيط المستخلصات للفطريات	٩٣
١١	الفعالية الإبادية للمجزء F_1 على الطور اليرقي الثاني للبعوض...............	٩٥
١٢	الفعالية الإبادية للمجزء F_{112} على الطور اليرقي الثاني للبعوض.............	٩٦
١٣	الفعالية الإبادية لمستخلص الزيت لنبات العرعر على الطور اليرقي الثاني للبعوض..	٩٦
١٤	الفعالية الإبادية للمجزء F_{211} على الطور اليرقي الثاني للبعوض.............	٩٧
١٥	قيم التركيز القاتل النصفي للمستخلصات والمجزءات على يرقات العمر الثاني للبعوض (٤٨ ساعة)..	٩٧
١٦	الفعالية الإبادية للمجزء F_{112} على القواقع الزراعية	٩٩
١٧	الفعالية الإبادية لمبيد اللانيت(ميثوميل ٩٠٪) على القواقع الزراعية..........	٩٩

١٨ قيم الجرعة القاتلة النصفية للمستخلصات والمجزءات على القواقع الزراعية ..٩٩
١٩ أعراض التسمم والموت وقيم الجرعة القاتلة النصفية للمستخلصات ١٠٣
٢٠ النسب المئوية للموت والجرعة النصفية القاتلة للمجزء F_{112} على الفئران الصغيرة SWR بالحقن داخل الغشاء البريتوني (IP) ١٠٤
٢١ تأثير المجزء F_{112} على نشاط ATPase خارج الجسم الحي على مخ ذكور الفئران
الصغيرة...١٠٦
٢٢ تأثير المجزء F_{112} على نشاط ATPase داخل الجسم الحي على
مخ ذكور الفئران الصغيرة SWR...١٠٦

١- المقدمة :

يعتبر تلوث البيئة من القضايا الهامة التى تهتم بها جميع الدول في الوقت الراهن وتعتبر المبيدات المصنعة مثل : المبيدات الكلورينية والفسفورية إحدى أعمدة هذا التلوث البيئي بشكل عام والبيئة الزراعية خاصة ، مما أحدث إضطراب أو خلل في النظام البيئي Ecosystem نتيجة ثبات بعض هذه المبيدات في التربة والمياه والمواد الغذائية مثل :DDT,Aldrin وغيرهما . مما يؤدي الى التأثير على الكائنات الحية. هذا بالإضافة الى إنتقالها خلال السلسلة الغذائية في مايعرف بظاهرة التعاظم Biomagnification مما يحدث مشاكل صحية خطيرة للإنسان والحيوان نتيجة لهذا التعرض غير المباشر (التعرض عن طريق المتبقيات) . وبالتالى حدوث كثير من الأمراض الخطيرة والمزمنة (نتيجة التعرض المستمر) ، هذا بالإضافة الى التعرض المباشر لبعض المبيدات شديدة السمية الذي يؤدي الى سمية حادة في بعض الأحيان نتيجة لإرتفاع سمية هذا النوع من المبيدات على الثدييات . وكذلك خفض كثافة الأعداء الحيوية الطبيعية والتى تلعب دورا كبيرا في توازن النظام البيئي
Flint and Bosch (1977)

تعتبر المبيدات إحدى الوسائل الرئيسة للحفاظ على المحاصيل الزراعية والثروة الحيوانية وكذلك للحفاظ على صحة الإنسان من الآفات الناقلة للأمراض ، فقد أستخدمت المبيدات بشكل مكثف وغير مقنن مما أدى الى المشاكل الآنفة الذكر ، مما ساهم في التوجه نحو بدائل أكثر أمانا ومنها الفرمونات والمبيدات الطبيعية (مبيدات من أصل طبيعي كالنبات والفطريات والبكتيريا) لما تتميز به هذه المبيدات الطبيعية عن المصنعة بعدم ثباتها في البيئة لفترة طويلة وعدم قابليتها للتخزين في أجسام الثدييات وفي عدم تراكمها في مكونات البيئة الأساسية وعدم أو قلة سميتها للثدييات والكائنات النافعة غير المستهدفة في غالبية الأحوال Immaraju (1998)

من الواضح أن الإتجاه الى الكيماويات المستخلصة من النباتات والكائنات الدقيقة وكذلك بعض مفصليات الأرجل لقي إهتماما كبيرا في السنوات الأخيرة
Aranson *et al* (1989), Bell *et al* (1990), Crombie (1990), Cutler (1988), Hodgson and Kuhr (1990)
نظرا لإحتوائها مواد كيماوية تتميز بفعاليتها العالية على الآفات وكذلك إحتمالية إحتوائها على مصادر جديدة للمبيدات وبالتالى إمكانية إستخدامها كمبيدات في المستقبل بشكل واسع Jacobson (1990)

بدأ الإهتمام بالمبيدات من أصل نباتي بعد إكتشاف مشاكل مبيد الـ DDT التى أدت الى المشاكل والأضرار التى تميزت بها المبيدات الكلورينية العضوية من ثبات بيئي ومقاومة للآفات Ware (1980) ، وقد ذكر Conway (1982) أن ٤٣٢ نوع من الحشرات والقراد والحلم أصبحت مقاومة للمبيدات الحشرية والأكاروسية المصنعة . كما أن بعض المبيدات الكلورينية العضوية مثل(Aldrin , DDT) صنفت كمواد مسرطنة Doull (1989) . وفي المقابل فقد لوحظ أن المبيدات من أصل نباتي غير ثابتة بيئيا وآمنة نسبيا للثدييات ومتخصصة وذات فعالية على الآفات المستهدفة Ottoboni (1984)

عرفت المبيدات من أصل نباتي منذ القدم حيث تميز العديد من النباتات بكونها مصدراً للمبيدات قديماً وحديثاً Ware (1980) . ومن أمثلة هذه النباتات : أشجار النيم Neem tree حيث عرفت هذه الأشجار بكونها مصدراً للمبيدات الحشرية والمواد الطاردة للحشرات وكمانعة للتغذية ومنظمة للنمو وكذلك كمبيدات نيماتودية وفطرية Lim and Dale (1994) ورغم أن المواد المستخلصة منها شديدة السمية للحشرات فأنها آمنة نسبياً للإنسان Jacobson (1988) . كذلك نبات الكريزانثيمم (Pyrethrum) *Chrysanthemum spp* الذى يعتبر المصدر لمبيدات البيرثرين الطبيعية والتى أستخدمت لسنوات عديدة في مكافحة الآفات المنزلية ومازال بعضها يستخدم حتى الآن ومنه تم تحضير عشرات المبيدات الجديدة ، والتى تستخدم لمكافحة العديد من الآفات الصحية والزراعية Prakash and Rao (1997)

تتميز المملكة العربية السعودية ببيئتها البرية الصحراوية التى تحوى أعداد كبيرة من النباتات والتى تنمو في المناطق الرملية الحارة والتى تتوزع في معظم أنحاء المملكة ، بالإضافة الى البيئة البرية الجبلية ذات درجات الحرارة المنخفضة والتى تنتشر بها أيضا العشرات من النباتات وتعتبر هذه النباتات ثروة طبيعية يمكن إستغلالها في إستخلاص مبيدات فعّالة على الآفات ومأمونة على الإنسان والبيئة لهذا وللإسباب الآنفة الذكر فقد نشأت فكرة هذه الدراسة .

٢- الدراسات السابقة

٢-١ نبات العرعر ***Juniperus procera***

٢-١-١ التركيب الكيميائي :

يحتوى نبات العرعر على عديد من المجاميع الكيميائية منها alkaloids, flavonoids, sacardic glycosides, coumarins, tannins, sterols, triterpenes, بالإضافة الى الزيوت الأساسية Al-Yahya *et al* (1983).

جدول (١) : محتوى نبات *J.procera* من الزيوت الأساسية في ثلاثة مواقع في أفريقيا كما وصفه Adams(1990) :

المركب	Kijabe	Nairobi	Ethiopia	الشكل البنائي
2- Hexanal	+	+	+	
α-Pinene	++	++	++	
α-Fenchone	+	+	+	
Camphene	+	+		

	+	+	+	Sabinene
-	+	+	+	1-Octen-3-ol
	++	+	++	ß-Pinene
	++	+	++	Myrcene
-	++	++	++	Car-3-ene
	+	+	+	Sylvestrene
	+	+	+	Limonene

	++	+	++	β-Phellandrene
	++	+	+	Terpinolene
-	+	+	+	Γ-Terpinene
	+	+	+	Linalool
	+	+	+	Camphor
	+	+	+	Borneol

	+	+	+	4-Terpineol
	+	+	+	ρ-Cymen-8-ol
	+	+	+	α- Terpineol
	+	+	+	Bornyl acetate
	+	+	+	Caryophyllene
	+	+	+	α-Humulene

	+	+	+	Germacrene D
-	+	++	++	Elemol
	+	+	+	Caryophyllene oxide
-	+	+	+	Γ-Eudesmol
-	+	++	+	β-Eudesmol
-	+	++	+	α-Eudesmol
-	+	+	+	Elemol acetate
-	+	++	+	8-α-acetoxyelemol
	–	+	+	Epi-13-Manool
	+	+	+	Manoyloxide

	+	+	+	Abietatriene
-	+	++	++	Abietadiene
	–	+	+	Cis-Totarol
-	+	+	+	Cis-Abietal
-	+	++	++	Trans-Totarol
	+	+	+	Ferruginol

حيث أن ++ > ٢٪ + ٠,١-٢٪، - < ٠,١ ٪

كما وجد إختلاف في تراكيز ووجود هذه المركبات بإختلاف المواقع التى جمعت منها ، كما لاحظ غياب مركب cedrol والذى يعتبر من المركبات الأساسية في معظم أنواع الجنس Juniperus.

٢-١-٢ الدراسات الإبادية (التقييم الحيوي) :

وجد Sighamony *et al* (1986) أن المستخلص الخام لزيت نبات *J.verginiana* يعمل على وقاية القمح المخزون لأكثر من ٦٠ يوم من آفة سوسة الأرز *Sitophilus orayzae* (rice weevil) وذلك بتركيز ١٠٠ جزء في المليون.

كما قام Appel and Mack (1989) بدراسة التأثيرات السامة والطاردة لمستخلص زيت نبات *J.verginiana* ضد أنواع من الصراصير حيث وجد لخام المستخلص تأثيرات طاردة ضد صرصور *Blattella germanica* أما أنواع *Periplaneta Americana, Periplaneta fuliginosa* فلم يعطى المستخلص أية تأثيرات طاردة . هذا وتزداد فعالية التأثير الطارد بزيادة سطح التعرض داخل أقفاص التجارب ، ولا توجد أية تأثيرات إبادية ضد الحشرت المعاملة .

درس Adams *et al* (1989) التأثيرات على شغالات حشرة النمل الأبيض *Reticulitermes flavipes* بإستخدام المستخلصات الزيتية لنشارة اللحاء لأنواع مختلفة من جنس Juniperus التى تنمو في الولايات المتحدة . حيث أعطى مستخلص الزيت لنشارة اللحاء لجميع الأنواع المستخدمة فعالية كمبيد للنمل الأبيض وتم إستخلاص النشارة بالهكسان ثم بالميثانول حيث أعطى كلا المجزئين (fractions) فعالية كمبيد هذا بالإضافة إلى المستخلص الزيتي للأوراق حيث أعطت فعالية لنفس المجزئين ، وفي نفس البحث أجرى دراسة أخرى تهدف لمعرفة المركبات التى تعود اليها السمية في نبات *J.virginiana* باستخدام الفصل الكيميائي ثم التعريف بجهاز كروماتوغرافي الغاز /مطياف الكتلة وجهازي IR, NMR وبإجراء التقييم الحيوي للمجزءات على حشرة النمل الأبيض *R.flavipes,R.virginicus*, *Coptotermes formosanus* حيث وجد أن المجزء الذى يحوي مركب Sesquiterpene alcohol widdrol كان أعلى سمية هذا بالإضافة الى سمية مركب Cedrol المعزول من النبات.

.

كذلك وجد Panella *et al* (1997) في دراسة على الأطوار غير الكاملة للقراد عن طريق المعاملة القمية (topical application) بإستخدام الماصة الدقيقة أن المستخلص الخام لزيت نبات *J.verginiana* فعال ضد القراد بالتركيز القاتل النصفي ٠,٠٠١٪ وزن/حجم مقارنة بالمستحضرات التجارية .

درس Gao-CongFen *et al* (1997) مكافحة حشرات الحبوب المخزونة *Plutella xylostella, Mythimna separata, Tribolium castaneum, Sitophilus zeamais*

بالزيـت المعـزول مـن بذور نبات *J.sabina vulgaris* عن طريق التبخير حيث وجدوا أن التركيز النصـفي القـاتل للمعـاملات كـان ١٣،١٠٠-٢٢،١٣-٩،٧٤-١٦١،١٢ مجم/ لتر على التوالى .هذا بالإضـافة الـى إستخدام نوعين من المستحضرات مع إضافة منشطات Synergists حيث وجدوا أن المسـتخلص الزيتيى أعطى فعالية أعلى من المستحضرات بدون إستخدام المنشطات والعكس مع إضافة المنشطات .

كذلك وجد Bonsignore *et al* (1990) أن مستخلص الزيت لنبات *J.oxycedrus* أعطى فعالية وذلك بتركيز١٢،٥-٢٥ ميكروجرام/ملم على بعض أنواع البكتيريا الطبية الموجبة لصبغة جرام.

كما وجد Dwivedi and Kishore (1990) أن مستخلص الزيت لهذا الجنس أدى الى تثبيط نمو الهيفات في فطر *Macrphomina phaseoline* بنسبة ٩٨،٢٪ وذلك بتركيز ٢٠٠٠ جزء في المليون .

وأيضا على الفطريات وجد Nirmala *et al* (1988) أن مستخلص الزيت لنبات *J.communis* أدى الى تثبيط نمو الجراثيم fungistatic بتركيز ١٠٠٠ جزء في المليون لفطر *Pythium aphanidermatum* وعند تركيز ٢٠٠٠ جزء في المليون أدى إلى تأثير إبادي fungicidal وتزداد الفعالية بزيادة التركيز الى ٣٠٠٠ جزء في المليون .

كما قام Bagci and Digrak (1996) بإجراء مقارنة لفعالية مستخلصات الزيوت من نباتات مختلفة على أنواع من البكتيريا ومن ضمنها نبات *J.chinesis* والذى لم يعطى فعالية تجاه بكتيريا *Escherichia coli* and *Bacillus subtils* بينما أعطى فعالة محدودة على الأنواع الأخرى من البكتيريا.

أيضا قام Stassi *et al* (1996) بمقارنة أنواع مختلفة من جنس Juniperus وهى *J.oxycedrus* subsp. *oxycedrus, J.oxycedrus* subsp. *Macrocarpa*, *J.drupacea* and *J.phoenicea* على أنواع من البكتيريا (٥ أنواع من البكتيريا الموجبة _ نوعين من البكتيريا السالبة بالإضافة الى فطر *Candida albicans*) و كانت فعالية الزيوت المستخلصة من الثمار أعلى فعالية من تلك المستخلصه من الأوراق بالإضافة الى فعالية ثمار نبات *J.oxycedrus* subsp. *oxycedrus* مقارنة بباقي الأنواع وتم فصل مكونات الزيت بإستخدام عمود الكروماتوغرافي حيث أعطى المجزء الذى أزيح بالإيثر أعلى فعاليه كما وجد أن مركب α-terpineol هو المركب الرئيس في المجزء وذلك بنسبة ٨٨،٤٪ .

وفي دراسة اخرى أجراها Cosentino *et al* (2003) للمستخلصات الخام الزيتية لأنواع مختلفة من جنس Juniperus لإختبار فعاليتها على أنواع من المسببات المرضية حيث وجد أن المستخلصات من نباتي *J.communis, J.oxycedrus* لم تعطى فعالية ضد أي من الكائنات المختبرة عند أعلى تركيز أستخدم وهو ٩٠٠ميكروجرام/مل أما مستخلص نبات *J.turbinate* فقد أعطى فعالية على الفطريات وخصوصا فطر(Aspergillus flavus (aflatoxin B1 producer أما على مستوى المركبات النقية أو المعزولة وجد أن مركب delta-3-carene والمعزول من نبات *J.turbinata* أعطى أعلى فعالية لمعظم المسببات المرضية المختبرة .

كذلك وجد Angioni *et al* (2003) في دراسة لأنواع مختلفة من جنس Juniperus بإستخدام المستخلصات الزيتية للأوراق والثمار الناضجة وغير الناضجة لنباتات *J.oxycedrus* L.ssp. *oxycedrus* , *J.phoenicea* ssp *turbinate* and *J.communis* ssp. *Communis* لمعرفة تأثيرها على أنواع من البكتيريا حيث أظهرت هذه المستخلصات فعالية ضعيفة على كلا من بكتيريا , *Staphylococus aureus* وفطر *Candida albicas* .

وفي دراسة على المستخلصات غير الزيتية أختبر Karamman *et al* (2003) كلا من المستخلص المائي والكحولي لنبات *J.oxycedrus* L تجاه ١٤٣ سلالة من البكتيريا والفطريات بإستخدام طريقة disc diffusion assay حيث وجد أن المستخلص المائي لم يعطى فعالية تجاه أى سلالة مختبرة أما المستخلص الكحولي فقد أعطى فعالية متباينة تجاه ٥٧ سلالة من البكتيريا منها
Acienetobacter, Bacillus, Brevundimonas, Brucella, Enterobacter, Escherichia, Micrococcus, Pseudomonas, Staphylococcus and Xanthomonas
هذا بالإضافة الى فعاليته ضد الفطر *Candida albicans* وذلك بتراكيز ٣١,٢٥-٢٥٠ ميكروجرام/مل .

٢-١-٣ الدراسات السمية (التقييم السمي):

في دراسة أجراها Schilcher and Leuschner (1997) لمعرفة تأثير زيت نبات Juniper oil التجاري والذي يستخدم في المجال الطبي على الكلى (nephrotoxic effects) بإستخدام ذكور فئران (Sprague-Dawley) وعن طريق الجرعة الفمية ، لم يعطى الزيت تأثير سام على الكلى بالتراكيز المستخدمة .

بينما درس Pages *et al* (1989) التأثيرات التشويهية (teratological evaluation) لمستخلص الزيت لنبات *J.sabina* على الإناث الحامل للفئران الصغيرة البيضاء ووجد فقط أن أعلى تركيز مستخدم أدى الى فقد في وزن الحيوانات المعاملة بالإضافة الى إحداث تأثير تشويهي محدد للأجنة .

ووجد Pradeep *et al* (1989) في دراسة لمعرفة التأثيرات الدوائية لزيت نبات (*J.macropoda(J.excelsa*) أن لمستخلص الزيت تأثير خافض أو مهبط لنشاط CNS (الجهاز العصبي المركزي) على الفئران الكبيرة ، بالإضافة الى إنخفاض في الضغط على الكلاب المخدرة دون التأثير على معدل أو مستوى التنفس وكذلك إحتمالية معتمدة على الجرعة في إحداث تقلصات في معى خنازير غينيا guinea pig ورحم الفئران .

٢-٢ نبات الجنجات *Lavandula dentata*

٢-٢-١ التركيب الكيميائي:

في دراسة لمعرفة محتوى الأجزاء الهوائية لنبات *L.dentata* الذى ينمو في المملكة العربية السعودية من الزيوت الأساسية وجد Muhtadi *et al* (1980) أن مركبات camphor, fenchone, fenchyl alcohol, borneol هي المركبات الرئيسة في المستخلص الخام للزيت بالإضافة الى مركبات أخرى بنسب متباينة .

كما ذكر Gamez *et al* (1990) أيضا محتوى النبات من الزيوت الأساسية ووجد أن مركبات eucalyptol , beta-pinene تمثل أعلى نسبة من محتوى الزيت . هذا ومن الجدير بالذكر أن محتوى النبات من الزيوت في الزهور والساق والأوراق متشابهه الى حد ما وتعتمد بالدرجة الرئيسة على ظروف نمو النبات Lappin *et al* (1987) ، وأيضا محتوى النبات من المركبات وتركيز هذه المركبات يعتمد على الفصل من السنة Figueiredo (1995) ، والجدول التالى يوضح محتوى النبات من الزيوت الأساسية .

جدول (٢) : محتوى نبات الجنجات *L.dentata* من الزيوت الأساسية.

المركب	الشكل البنائي	المرجع
α-pinene		Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)

Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		Camphene
Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		β-pinene
Gamez *et al* (1990)	–	3-carene
Gamez *et al* (1990)		myrcene
Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)	O	1,8-cineole
Gamez *et al* (1990)	–	α-terpinene

Gamez *et al* (1990)		ρ-cymene
Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		Fenchone
Gamez *et al* (1990)		Pulegone
Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		camphor
Gamez *et al* (1990)		linalool
Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		Linalylacetate

Gamez *et al* (1990)		Terpinene-4-ol
Gamez *et al* (1990)		β-caryophylene
Gamez *et al* (1990)		Trans-pinocarvol
Gamez *et al* (1990)	–	lavandulol
Gamez *et al* (1990)		Terpenyl acetate
Gamez *et al* (1990)		p-cymen-8-ol

Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		borneol
Gamez *et al* (1990)	–	α-cubebene
Gamez *et al* (1990)	–	α-gurjunene
Gamez *et al* (1990)		geraniol
Gamez *et al* (1990)	–	nerol
Gamez *et al* (1990)	–	Methyl-ionone
Gamez *et al* (1990)		Thymol

Gamez *et al* (1990)	HO	carvacrol
Gamez *et al* (1990), Muhtadi *et al* (1980)		limonene
Muhtadi *et al* (1980)	HO	Camphenilol
Muhtadi *et al* (1980)	HO	Fenchyl alcohol
Muhtadi *et al* (1980)	O	myrtenal

Muhtadi *et al* (1980)	O	verbenone
Muhtadi *et al* (1980)	HO	myrtenone

٢-٢-٢ الدراسات الإبادية (التقييم الحيوي) :

وجد Yarnell (1998) أن المركبات المعزولة من مستخلص الزيت لنبات اللافندر وهى terpineol,alpha-pinene,camphene لها نشاط مضاد للقمل antilice .

كذلك وجد Konstantopoulou *et al* (1992) أن مستخلص الزيت لنباتي *L.stoechus* و *L.angustifolia* له تأثيرات إبادية ضد ذباب الدروسوفيلا *Drosophila auraria* .

ودرس Mansour *et al* (1986) تأثير مستخلص الزيت لنبات *L.angustifolia* على التكاثر في حلم العنكبوتCarmine spider mite حيث وجد أن المعاملة بالزيت أدت الى إختزال ٧٨-٩٢٪ في نسبة التكاثر.

كما أشار Perruci *et al* (1996) الى فعالية مستخلص الزيت لنبات *L.angustifolia* ضد حلم الأرانب *P.cuniculi* وذلك بالتعريض عن طريق الإستنشاق .

وقام Hink and Liberati (1988) بدراسة تأثير مركب linalool المعزول من مستخلص الزيت لنبات اللافندر على البراغيث حيث وجد أن القطط المغمورة بمستخلص الزيت تتخلص من البراغيث التى تصيبها .

كما قيم Maga *et al* (2000) مجموعة من المجزءات المعزولة من مستخلص الزيت لنبات اللافندر تجاه حشرة *Tribolium castaneum* ووجد أن المجزىء الذى يحوي أعلى نسبة من مركب Eucalyptol (1,8-cineole) له أعلى فعالية ضد الحشرة .

وفي دراسة Weston *et al* (1997) على ٢٠ طفل في بريطانيا مصابين بقمل الرأس والمقاوم لكثير من المعاملات الصيدلانية وجد أن مخلوط من ٦ زيوت من ضمنها زيت اللافندر أعطى فعالية عالية في مكافحة قمل الرأس.

وجد Mcindoo (1982) أن الزيت المستخلص من الأوراق والزهور لنبات *L.angustifolia* أعطى تأثير طارد ضد حشرة من القطن (cotton Aphid) *Aphis gosypii* .

كما ان الزيوت الطيارة Volatile oils بشكل عام لها تأثير طارد تجاه البعوض فقد وجد Choi *et al* (2002) أن أي نبات يحوي نسب عالية من مركبات thymol,p-cymen,carvacrol,linalool,α-terpinene وهي أيضا موجودة في معظم أنواع زيت اللافندر لها تأثير طارد ضد البعوض وذلك بتركيز ٠,٠٥ ٪ على الفئران عديمة الشعر حيث أعطى نسبة فعالية ٩١٪ مقارنة بالكونترول كما أن إستخدام تركيز ٢٪ من مركب α-terpinene أعطى فعالية أقوى من المركب التجارى N,N-diethyl-methylbenzamide (deet) والذى يستخدم كطارد للبعوض.

كما وجد Ignatowicz (1997) في دراسة لنباتات عائلة Lamiaceae ومن ضمنها نبات *L.angustifolia* أن لمسحوق الأجزاء الهوائية فعالية كتأثير طارد ضد حشرة *Sitophilus granaries* التى تصيب القمح وتزداد هذه الفعالية بزيادة التركيز حيث وجد أن أعلى تركيز أستخدم ٥ ٪ (وزن) كما أن الفعالية تجاه حشرتي *S.granaries ,S.oryzae* تعتمد على المحتوى الكيميائي للنبات وموعد الجمع ، أما الجرعات المستخدمة ٢-٥٪ أعطت نسبة موت بمقدار ٧٠-٨٠٪ على التوالى ضد الحشرة بعد ٧ أيام من المعاملة كما أن حشرة *S.oryzae* ذات حساسية أقل لمعظم النباتات المختبرة من حشرة *S.granaries* .

وذكر Priestley *et al* (1998) أن للزيوت الأساسية ومن ضمنها زيت نبات اللافندر تأثير طارد على حلم *Dermatophagoides pteronyssinus* وذلك بتركيز ٠,١ مل على أوراق ترشيح قطرها ٣سم بعد ساعتين من المعاملة بنسبة ٨٧٪ .

كما وجد Kumar and Dutta (1987) أن للمستخلصات الزيتية لنبات *L.angustifolia* تأثيرات إبادية على الطور الرابع ليرقات بعوض *Anopheles stephensi* تحت ظروف المعمل حيث كان التركيز القاتل النصفي ٨٣,٦ جزء في المليون .

ودرس Shaaya *et al* (1991) تأثير التبخير لبعض الزيوت الأساسية على أربعة من حشرات الحبوب المخزونة الرئيسة *Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Sitopilus oryzae* حيث تم تصنيف التأثير الى ثلاث مجاميع حسب الفعالية ووجد أن لنبات *L.angustifolius* بالإضافة الى مركبات معزولة وهي Terpinene-4-ol, 1.8-cineole أعلى فعالية على حشرة *R.dominica* ولم تظهر فعالية على الحشرات الأخرى .

وفي دراسة أخرى أجراها Kalinovic *et al* (1997) لخمسة أنواع من النباتات العطرية في فعاليتها كمبيد للحشرات تجاه بعض حشرات الحبوب المخزونة تحت الظروف المعملية وهى *Sitophilus granaries, Acanthoscelides obtectus* حيث وجد أن حشرة *A.obtectus* التى تصيب نبات *Phaseolus vulgaris* كانت أكثر حساسية لمستخاص زيت *L.angustifolia* .

وفي أبحاث التأثيرات على الكائنات الدقيقة وجد Nelson (1997) أن مستخاص الزيت لنبات *L.angustifolia* له تأثيرات مثبطة لنمو الجراثيم bacteriostatic وكذلك تأثيرات قاتلة للجراثيم bactericidal تجاه أنواع من البكتيريا المقاومة لبعض المضادات الحيوية .

أما في الفطريات فقد وجد Adam *et al* (1998) أن مستخاص الزيت لنبات *L.angustifolia* له تأثيرات مثبطة بالإضافة الى التأثيرات الإبادية لبعض الفطريات المسببة للأمراض في الإنسان كما وجد أن مركبات P-cymene, limonene, linalool,lα-pinen, 1,8-cineole لها علاقة بهذه الفعالية.

كما قام Lis-Balchin *et al* (1998) بدراسة لمعرفة العلاقة بين التركيب الكيميائي والفعالية البيولوجية لأكثر من ١٠٥ من الزيوت الأساسية منها زيت اللافندر حيث وجد أن هناك علاقة بين المركب الرئيس في المستخاص الخام للزيت أو المجزء والفعالية البيولوجية ولكن ليس بالضرورة دائما إرتباط هذه الفعالية بالمركب الرئيس او الأساسي ، كما وجد إختلاف في الفعالية بين الأنواع داخل الجنس الواحد وهذا يعود الى إختلاف نسب أو وجود المركبات بين الأنواع.

٢-٢-٣ الدراسات السمية (التقييم السمي) :

ذكر Atanassova-Shopova and Roussinov (1970) أن زيت اللافندر يصل الى مرحلة السمية إذا حقن بجرعات عالية .

وقد أشار Hosser (1990) الى أن المركبات التى تعود اليها السمية في الزيت هى D-limonene, geraniol, linalool, linalyl acetate .

كما درس Parke *et al* (1974) حالة السمية المزمنة والتى يحدثها مركب linalool المعزول من زيت اللافندر عند حقنه في الفئران حيث وجد أنه يرتبط ويتخلص منه الجسم بسرعة مما يدل على عدم خطورته عند التعرض له لفترات طويلة.

كذلك وجد Hosser (1990) أن القطط التى تلعق منتجات تحوى زيت اللافندر والذى يحوى بدوره على مركبات D-limonene, linalool تظهر عليها علامات التسمم مثل زيادة في إفراز اللعاب ورعشات في العضلات وترنح وخمول وإنخفاض في الحرارة.

قام Inouye and Yamaguchi (2001) بمعاملة مجموعة من الفئران بزيت اللافندر عن طريق الإستنشاق حيث وضعت الفئران في أقفاص محكمة الغلق وعرضت بتراكيز ٢,٥-١٠-٤٠ مجم/ليتر/ في اليوم لمدة أسبوع، حيث لاحظ الباحثان زيادة في الوزن العام للجسم بالإضافة الى التراكم في الرئة والدم والمخ عند تركيز ١٠-٤٠ مجم/لتر ، كما أنه لم يحدث أي تأثيرات مرضية في أنسجة المخ والرئة للحيوانات موضع الإختبار.

وفي الدراسة التى أجراها Yurkova (1999) على الفئران الكبيرة حيث جرى تعريضها عن طريق الإستنشاق للزيوت الأساسية لنبات اللافندر ولاحظ إستعادة الفئران للنشاط الطبيعي لإنزيمات الأكسدة الضرورية للأيض .

٢-٣ نبات العشار *Calotropis procera*

٢-٣-١ التركيب الكيميائي :

تحتوي الأجزاء الهوائية من نبات العشار على المجاميع التالية:
Saponins, tannins, triterpenes, alkaloids, cardiac glycosides, flavonoids,
وقد ذكر كلا من
Hesse *et al* (1950), Hesse and Reichender (1936), Hesse *et al* (1939), Zechner (1954), Seiber *et al* (1982).
أن مركبات الجليكوسيدات القلبية Cardiac glycosides هى من المجاميع التى سجلت في البداية في الأوراق(Leaves) والمادة اللبنية(Latex) والساق (stalks).

كما قام Hesse *et al* (1941) بعزل وتعريف مادة راتنجية (resin) من المادة اللبنية ووجد أنها مخلوط من (triterpene esters) .

وأيضا عزل Saber *et al* (1968) مجموعة من مركبات (Sterols and pentacyclic triterpenes) وذلك من مستخلص البتروليم إيثر للمادة اللبنية للنبات .

كما ذكر Ansari and Ali (1999) أن المادة الراتنجية في النباتات حديثة العمر أقل من المعمرة ، والأزهار تحوي مواد راتنجية نشطة holorrhetin حيث يحدث لها تميؤ لتعطى مادة holarrhenine , pyroterebic acid وكذلك تحوي الأزهار مادة cyanidin-3-rhamnoglucoside ، وقد عزل من بذور النبات الذى ينمو في نيجيريا مستخلص زيتي يحوي نسب من أحماض
palmitic(16%),stearic(12%), oleic (37%), linoleic (33%) بالإضافة الى esters 33% ، كما تحوى الجذور على المركبات الكيميائية β-amyrin, taraxasteryl isovalerate, α-amyrin, taraxasteryl acetate, giganteol, isogiganteol, β-sitosterol, waxes بالإضافة الى مركب Quercetin-3-rutinoside والمعزول من الجذور ، كما أن مركب β-amyrin يوجد في جميع أجزاء النبات .

كما وجد Hesse *et al* (1941) أن المادة اللبنية تحوى مركب α-lactucerol وذلك في المستخلص الإيثانولي كمادة أساسية ، ووجد Hesse *et al* (1939) العديد من المجاميع الكيميائية وذلك في المادة اللبنية وهى

cardioactive poisons, terpenoid alcohols, esters, steam-volatile, long-chain fatty acids

وقد عزل Hesse and Reicheneder (1936), Hesse *et al* (1939)
مركبات جليكوسيدات قلبية سامة من المادة اللبنية للنبات الذى ينمو في أفريقيا وهى
voruscharin,calactin,calotropin,calotoxin,uscharidin,uscharin, gomphoside,afroside, a common genin calotropagenin

كما قام كلاً من Crout *et al* (1963), Bruschweilier *et al* (1969a), Bruschweilier *et al* (1969b), Cheung and Watson (1980), Cheung *et al* (1981)
بتحديد التركيب البنائي للمركب الأساسي calotropagenin بالإضافة الى المركبات الأخرى المرتبطة به في جزىء السكر(sugar moiety (glycoside ، كذلك قام Singh and Rastogi (1972) بتحديد التركيب البنائي لمركب asclepin .

ومن الأوراق عزل وعرّف Akthar *et al* (1992) مركب Proceragenin من مجموعة الكاردينوليد ذو فعالية على البكتيريا .

وقـد ذكر Ansari and Ali (1999) أن النبات يحوي مركبات من مجموعة Triterpene مـنها مركب ترايتربين ويسمى taraxest-20-(30)-en-3-(4-methyl-3-pentenoate والذى عزل من المادة اللبنية مع مركبات β-amyrin, α-calotropeol,β-calotropeol,3-epimoretenol .

وفي دراسة Khan *et al* (1989) لعزل مركبات من الأزهار غير الجافة والطازجة للنبات تم عزل مركب stigmast-4-en-6-β-ol-one وهو من مجموعة steroidal hydroxy ketone وذلك من المستخلص الإيثانولي.

كما قام Khan *et al* (1988) بعزل وتعريف مركب calotropenyl acetate والذى ينتمى الى مجموعة pentacyclic triterpene وذلك من مستخلص الأزهار .
أيضا قام Khan *et al* (1990) بعزل وتعريف مجموعة متباينة من المركبات وذلك من الأزهار وهى
Multiflorenol, cyclosadal, cycloart-23-ene-3bet, 25-diol,β-sitosterol-4-en-3-one, α and β-amyrin, stigmastirol

كمـا عـزل وعرّف Pant and Chaturvedi (1989) مركب Lupeol الذى يتبع مجموعة pentacyclic triterpene alcogol وذلك من مستخلص المادة اللبنية.

وعزل Gupta *et al* (1996) عدد من المركبات التابعة لمجموعة ترايتربين من الجذور

Ursa-13(18),19(29)-dien-3α-yl acetate
18alphaH-urs-19(29)-en-3-one
18alphaH-ursa-12,20(30)-dien-3alpha-yl acetate
18alphaH-urs-19(29)-en-3-β-yl acetate

كما قام أيضا Gupta *et al* (2002) بعزل مركب

Olean-12-en-28 oic acid –3-,Omicron

من ساق النبات والتابع لمجموعة الترايتربين

taraxest-20 (30)-en-3-(4-methyl-3-pentenoate

Calotrophenyl acetate

٢-٣-٢ الدراسات الإبادية (التقييم الحيوي):

جدول (٣) الدراسات الإبادية لنبات العشار *C.procera*

الجزء المستخدم	المستخاص /المجزء	المركب المعزول	الجرعة المؤثرة	الكائن المستخدم	الفعالية	المرجع
المادة اللبنية	_	غير معروف	٩,٣٪ معدل الفقد في وزن الخشب المعامل وذلك مقارنة بالكونترول ٤٦,٢٩٪	*Cedrus deodara* *Mangifera indica* *Dalbergia sisso* *Pinus excelsa* *Tectona grandis*	نشاط مضاد للنمل الأبيض	Girdhar and Santosh (1988)
المادة اللبنية	_	غير معروف	١ مل من المادة اللبنية /١٠٠ مل ماء أعطت فعالية ١٠٠٪ كنشاط مبيد للبعوض	*Anopheles stephensi* *Aedes aegypti* *Culex fatigan*	مكافحة البعوض	Girdhar *et al* (1984)
المادة اللبنية	إيثانول ٩٥٪	Uscharin	الجرعة النصفية القاتلة =٠,٨٢ ميكروجرام/ قوقع وذلك بعد ٢٤ ساعة من المعاملة	*Thepa pisana*	نشاط كمبيد للقواقع	Hussien *et al* (1994)

المادة اللبنية	-بتروليم ايثر -ميثانول -الماء -المادة الجافة من الجزء المائي -المادة اللبنية الجافة	غير معروف	فعالية محددة عند تركيز ١٠٠٠ ميكروجرام /مل	مستعمرات بكتيرية وفطرية	فعالية كمضاد للميكروبات	Desta (1993)
الأوراق	المستخاص الجاف والمائي	غير معروف	بتركيز ١٠٠٠٠جزء في المليون أعطى نسبة موت ١٠٠٪	*Limonea luteola*	نشاط كمبيد للقواقع	Bali *et al* (1985)
الأوراق	٩٥٪ إيثانول	غير معروف	MICأقل تركيز مثبط =٢ مجم/مل	*Candida albicans*	نشاط مضاد للفطريات	Tanira *et al* (1994)
الأوراق	المستخاص المائي	غير معروف	٥٪ من المستخاص الخام أعطت ٦٠ ٪ نسبة موت في اليرقات	*Eutectona machaeralis Walk (Teak skeletonizer)*	فعالية كمبيد للحشرات	Meshram (1995)
الأوراق	مخلوط البودرة مع البيئة	غير معروف	٦٠٠٠٠جزء في المليون أعطت نسبة موت ٢٦,٣١٪ بعد يومين	*Tribolium confusum*	فعالية كمبيد للحشرات	Jahan *et al* (1991)
الأوراق	الميثانول	غير معروف	التخفيف ١:٥ ، ١:١٠	مستعمرات بكتيرية وفطرية	نشاط مضاد للبكتيريا والفطريات	Kumar and Chanhan (1992)

كامل النبات	-كلوروفورم -ميثانول -المستخلص المائي	غير معروف	٠,١ مل	مستعمرات بكتيرية	نشاط مضاد للبكتيريا	Almaqboul *et al* (1985)
الأوراق الزهور الجذور	إيثانول	زيت	٠,٠٢مل	مستعمرات بكتيرية	نشاط مضاد للبكتيريا	Nawazisht *et al* (1979)
الأوراق الساق الجذور الزهور الثمار الجذور	إيثانول	غير معروف	الجذور أظهرت نطاق تثبيط ١٦ مم الساق أظهرت نطاق تثبيط ١٧ مم	*Enterobacter cloacae* *Fusarium moniliformae*	نشاط مضاد للميكروبات	Jain *et al* (1996)
الأوراق	_	غير معروف	معاملة التربة بمعدل ٩ طن/هكتار	النمل الأبيض	فعالية كمبيد حشري	Hussain (1928)
الأوراق	_	غير معروف	مستخلص الأوراق يخفض من تعداد الحشرة بشكل منفرد أو مع مبيد مالاثيون	*R. Dominican*	فعالية كمبيد حشري	Sharma (1983)

الأزهار الأوراق المادة اللبنية	-إيثايل اسيتات -بيوتانول -ايثايل اسيتات -بيوتانول -الجزء المائي -ايثانول -متبقى من الجزء المائي	غير معروف	أقل تركيز مثبط (ميكروجرام/مل) ٢٤-٧٢ ٢٠ـ٦٨ ٢٤-٥٩ ٢٤-٧٦ التركيز القاتل النصفي (جزء في المليون) ٦٦ ٣٦ ٧٦	مستعمرات فطرية *Bulinus truncatu*	فعالية كمضاد للفطريات فعالية كمبيد للقواقع	Larhsini *et al* (1997)
الأزهار الأوراق الفروع الساق	الإستخلاص بالغليان (ميثانول ٢١٪)	غير معروف	٦٦,٧٪ نسبة موت	*Plecoptera reflexa* Guen, (Noctudiae, Lepidoptera)	فعالية كمبيد حشري	Chaudhury (1992)
الساق الأفرع الأوراق الأزهار	-مذيب كحولي -البتروليم إيثر	غير مرووف	–	*Aulacophora foveicollis* *Pieris brassica*	فعالية كمبيد حشري	Khanvilkar (1983)

الأزهار	_	غير معروف	للمستخلص تأثير سام على الأطوار اليرقية الأربعة للحشرة	*R. Dominican*	فعالية كمبيد حشري	Sharma (1985)
الأوراق	الأوراق المطحونة الجافة والمخلوطة	غير معروف	اعطت سمية للحشرةعندما تخلط مع بذور اللوبيا بمعدل ٢٪ وزن/وزن	*C.chinensis*	فعالية كمبيد حشري	Yadav and Bhatnagar (1987)
الأوراق	الأوراق المطحونة الجافة والمخلوطة	غير معروف	البودرة المخلوطة مع الرز المخزون بمعدل ٢٪وزن/وزن للحماية من الحشرة	*R. Dominican*	فعالية على الحشرة	Jacob and Sheila (1993)
الأوراق	المستخلص المائي	غير معروف	فعالية بالتأثير على عملية فقس البيض عند معاملة النباتات المصابة من الخضار بالنيماتودا	نيماتودا تعقد الجذور	فعالية كمبيد نيماتودي	Jain *et al* (1986)
الأوراق	الأوراق المطحونة الجافة والمخلوطة	غير معروف	بودرة الأوراق المخلوطة مع التربة تختزل التورمات او التقرحات	نيماتودا تعقد الجذور	فعالية كمبيد نيماتودى	Reddy and Khan (1990)
الأوراق	الأوراق المطحونة الجافة والمخلوطة	غير معروف	بودرة الأوراق المخلوطة مع تربة نبات الطماطم تعطى فعالية في إختزال أعداد النيماتودا	نيماتودا تعقد الجذور نيماتودا التورمات	فعالية كمبيد نيماتودى	Sunderababu *et al* (1993)

الأوراق	_	غير معروف	المستخلص اعطى سمية على بيض النيماتودا التى تصيب الشعير	نيماتودا Havenae	فعالية على بيض النيماتودا	Sharma and Trivedis (1995)
الأوراق	الأوراق المطحونة الجافة والمخلوطة	غير معروف	البودرة المخلوطة مع تربة نبات القرع تختزل بشكل واضح أعداد النيماتودا بمعدل ١٥٠٠جم/م٢	*M.incognita* *H.indicus*	فعالية كمبيد نيماتودى	Verma and Anwar (1995)
المادة اللبنية	المستخلص المائي	غير معروف	أعطى تركيز قاتل نصفي ٢٨ جزء في المليون على الطور الثالث متأخر/بداية الرابع	*Anopheles labranchiae*	فعالية كمبيد حشري	Markouk *et al* (2000)
كامل النبات	مجزء الهكسان	Proceragenin	اقل تركيز مثبط=١٠٠-١٥٠ مجم MIC	مستعمرات بكتيرية (موجبة- سالبة لجرام)	فعالية كمضاد للبكتيريا	Akthar *et al* (1992)
الأوراق	_	غير معروف	أقل تركيز أعطى فعالية أكثر من٥٠ ٪ موت بعد ٢٤ ساعة	*M.incognita*	فعالية كمبيد للنيماتودا	Khanna (1990)
كامل النبات	-	غير معروف	أعطى نسبة موت ١٠٠٪ وذلك بعد ٧٢ ساعة	*A.composticola*	فعالية كمبيد نيماتودى	Khanna *et al* (1988)

المادة اللبنية	_	غير معروف	غمر بذور البامية مع المادة اللبنية لمدة ١٢-٢٤-٧٢ ساعة وتنمى مع تربة ملوثة بالنيماتودا لمدة ٣ اسابيع أدى الى إختزال أعداد النيماتودا ويزداد نمو النبات مع زيادة التركيز وزمن الغمر	*M.incognita*	فعالية كمبيد نيماتودى	Wani *et al* (1994)
البذور	مستخلص البذور	غير معروف	أعطى فعالية في إعاقة فقس بيض النيماتودا	*M.incognita* *M.javanica*	فعالية كمبيد للنيماتودا	Khurma *et al* (1997)
الأوراق	_	غير معروف	معاملة التربة بالأوراق (تلقيح) أدى إختزال أعداد النيماتودا مع نسبة موت ٧٠٪ وزيادة في معدل النمو وتزداد الفعالية بزيادة التركيز ووقت التعرض	*H.dihystera*	فعالية كمبيد نيماتودى	Firoza and Maqbool (1996)
الأوراق	مطحون الأوراق	غير معروف	ستخدم بمعدل ٥جم(ورق)/كجم(تربة) في أصص زراعية ،أدى إلى زيادة في النمو للنبات وإنخفاض لأعداد النيماتودا	*M.incognita*(tomato) *Rotylenchulus reniformis* (Vigna radiata)	فعالية كمبيد نيماتودى	Sunderababu *et al* (1990)

–	–	غير معروف	أستخدم غمر البذور للحماية من النيماتودا حيث أعطى انخفاض في معدل الكثافة العددية للنيماتودا ٣٦,٥ -٢٥,٥٪	*M.incognita M.javanica*	فعالية كمبيد نيماتودى	Patel *et al* (1993)
الأوراق	مطحون الأوراق	غير معروف	أعطى فعاليه أقل مقارنة بالنباتات الأخرى المختبرة.	*Dalbergia sisso defoliator Plecoptera reflexa*	فعالية كمبيد حشري ، مانع للتغذية	Meshram (2000)
المادة اللبنية	مائي	غير معروف	أقل تركيز ٥٪ أعطى فعالية على يرقات العمر الثالث خلال ٣ ساعات من وقت المعاملة وذلك بمعدل ٣ ميكروليتر لليرقة.	*Musca domestica*	فعالية كمبيد حشري	Morsy *et al* (2001)
الأوراق	–	غير معروف	أعطى فعالية في حماية الأشجار من الإصابة بالنمل الأبيض	Termite	فعالية على الحشرة	Parihar (1994)
الأوراق	مطحون الأوراق	غير معروف	أعطى فعالية على العمر الرابع والخامس للحوريات بالإضافة الى تثبيط التغذية مع زيادة فترة التطور ، وتقليل فترة حياة الحشرة الكاملة وزيادة فترة وضع البيض للإناث مع زيادة التركيز.	*Schistocerca gregaria*	فعالية محددة على الحشرة	Abdullah (2000)

الأوراق	مطحون الأوراق	غير معروف	أعطى فعالية على اليرقات ولكن بدرجة أقل من باقي المستخلصات وتزداد الفعالية بزيادة فترة التعرض والتركيز	*T.semipenetrans*	فعالية كمبيد نيماتودي	Awan *et al* (1992)
_	مستخلص كحولي	غير معروف	بتركيز ٢,٥٪ من المستخلص اعطى فعالية بعد ٤٨ ساعة بطريقة الغمر	*Boophilus microplus*	فعالية كمبيد اكاروسي	Chungsamarnyart *et al* (1994)
الجذور	مستخلص كحولي	غير معروف	أعطى فعالية محددة في تثبيط نمو الفطر مع باقي المستخلصات	*M.phaseolina*	نشاط مضاد للفطريات	Dushyent *et al* (1999)
الأوراق	مستخلص مائي	غير معروف	التراكيز ٢-٣-٤٪ أعطى فعالية طاردة وسمية مباشرة ،كما ان بودرة الأوراق بتراكيز ٢-٣-٤٪ أدت الى إنخفاض معدل الإصابة بالحشرة	*R.dominica*	فعالية كمبيد حشري وطارد	Amin *et al* (2000)

الأوراق	أسيتون- -ايثانول -بتروليم ايثر -مائي	غير معروف	مستخلص الإيثانول أعطى أعلى فعالية، ففي اليرقة اعطى فعالية ١,٧ - ١,٣- ١,٣ على اليرقة من المستخلص المائي والبتروليم ايثر والأسيتون على التوالى ، والعذارى ١,٢-١,٤-١,٩أعلى سمية من المائي والأسيتون والبتروليم ايثر ، أما ذكور الحشرات الكاملة ١,٤-١,٥- -٢,٠ والأناث ١,٤-١,٦-٢,٢ أعلى سمية من المستخلص المائي وبتروليم ايثر والأسيتون على التوالى.	*Sarcophaga haemorroidalis*	فعالية كمبيد حشري	Moursy (1997)

٢-٣-٣ الدراسات السمية (التقييم السمي):

في دراسة أجراها Al-Robai *et al* (1993a) لملاحظة التغير في التركيب الدقيق لعضلة القلب والمحتويات الكيموحيوية لبلازما الدم فقد لوحظ زيادة في Na+, K+ وفي الجلوكوز والكرياتينين والبولينا والأصباغ الحمراء من مادة الصفراء بالإضافة الى النشاط الحيوي للإنزيمات GPT,GOT,CPK,LDH ، كما حدث نقصا في المكونات الأخرى لبلازما الدم مثل البروتين الكلي والألبيومين والنشاط الحيوي لأنزيمي GGT,ALP ، كما أدت الجرعة غير المميتة من مستخلص المادة اللبنية الى تغييرات في التركيب الدقيق لعضلة القلب مثل الزيادة في أعداد الميتوكندريا وأيضا تحلل الخيوط العضلية في بعض الليفيات العضلية وإختفاء التخطيط العرضي لتلك العضلات نتيجة تقلصها ، أما المعاملة بالجرعة المميتة لم تؤدى الى ظهور التأثير على عضلات القلب.

وفي دراسة أخرى أجراها Al-Robai *et al* (1993b) لمعرفة تأثير مستخلص المادة اللبنية للعشار على نشاط الـATPase في الكلى للفئران حيث أدت المعاملة بالحقن داخل التجويف البريتوني للبطن الى تثبيط نشاط الأنزيم بتركيز $PI_{50} = 5$ كما أدت المعاملة إلى نقص في معدل إستهلاك الأكسجين بنسبة ٢١-٢٧٪ وإلى حدوث تغيرات في الكلى مثل موت للخلايا (Necrosis) وتوسع في الشبكة الإندوبلازمية وإنتفاخ في الميتوكندريا وتكاثف الكروماتين قرب الغشاء النووي في خلايا الأنابيب البولية للفئران ، هذا بالإضافة الى إنحلال بالعضيات وتمزق الأغشية الجانبية وخروج بعض المكونات الخلوية الى تجاويف الأنابيب البولية الكلاوية .

وفي دراسة Ranvir Pahwa and Chatterjee (1988) حيث أستخدما المادة اللبنية كطعم مع دقيق القمح والسكر ولمدة ١٠ ايام لاحظا العديد من العلامات أو الأعراض مثل السكون وضيق التنفس والضعف العام والإختزال في الوزن وقلة الشهوة للطعام والإسهال والبول الدموي والنزيف من الأنف والعين والشرج ثم الموت وكانت نسب الموت ٥٦,٢٥ -٦٨,٧٥ - ٨٧,٥ ٪ وذلك للجرعات ٥-٧,٥-١٠ ٪ (وزن/وزن) على التوالى هذا بالإضافة الى التأثيرات الهيستوباثولوجيه مثل تحبب السيتوبلازم وإنتفاخ في الخلايا الكبدية ونزيف في الكبد والكلى وغيرها .

كذلك قام Desheesh *et al* (1997) بإستخدام طعوم مسحوق الأوراق الجافة ومسحوق الأوراق الخضراء بالإضافة الى مركب Uscharin المعزول من المادة اللبنية مخلوطة مع مطحون الذرة الشامية لملاحظة التأثيرات على الفئران الكبيرة حيث أعطى مسحوق الأوراق أعلى فعالية من

مسحوق الأوراق الخضراء أما الإناث الحامل من الفئران فقد كانت حساسة لطعوم مسحوق الأوراق الجافة ومركب Uscharin .

وقام El-Sheikh *et al* (1991) بدراسة تأثير المادة اللبنية على نشاط إنزيمات أيض الأدوية (Drug-metabolizing Enzymes) في الكبد والكلى وتأثير مركب Dieldrin على إزالة السمية حيث وجد أنه بإستخدام جرعة يومية بمقدار ٠,١-٠,٨ مل (مادة لبنية /كجم لمدة ٧ أيام أدى الى تثبيط واضح لنشاط aniline 4-Hydroxylase ولكن لم يؤدى الى تثبيط واضح لنشاط aminopyrine-N-demethylase, UDP-glucuronyltransferase أما الجرعة المفردة ١,٢-١,٦ مل/كجم أدت الى قتل الماعز(goat) خلال ٧ ساعات وأعطت زيادة في نشاط aminopyrine-N-demethylase , aniline 4-hydroxylase ولم تظهر أى تأثيرات مرضية على الماعز المعامل بالدايلدرين ثم المادة اللبنية بجرعة ١,٢مل/كجم لمدة ١٤ يوماً ، وأوضحت النتيجة أن المعاملة بالدايلدرين قبل المعاملة بالمادة اللبنية أدت إلى تنشيط إنزيمات أيض الأدوية في الكبد والكلى والأثنى عشر (duodenal mucosa) .

ووجد Al-Yahya *et al* (1986) أن معاملة الفئران الصغيرة البيضاء بالحقن داخل التجويف البريتوني للبطن بمستخلص الكلوروفورم والإيثانول للمادة اللبنية أدت الى علامات مرضية سريعة ، مثل إختلال في معدل التنفس بالإضافة إلى حدوث إضطرابات واضحة ، كذلك الترنح في جميع الحيوانات المختبرة ، وزيادة في معدل ضربات القلب والتنفس مع بداية تألمٍ وتلوٍ وأستمرت الأعراض حتى الموت بعد ١٥-٢٢ دقيقة من الحقن .

وذكر Gerber and Flourens (1914) أن مادة التربسين الموجودة في النبات أعطت أعراض تسمم وموت وذلك بالحقن تحت الجلد في الفئران الصغيرة وحيوان Ginea pigs ، كما ذكر أيضا Flourens and Gerber (1914b) أن نفس المادة أعطت كذلك أعراض ضيق وصعوبة في التنفس وتشنجات وشلل في الأطراف الأمامية ثم الموت خلال ٣٠ دقيقة .

كما أشار Srivatava *et al* (1962) إلى أن مستخلص الإيثانول والكلوروفورم أدى الى حدوث تقلصات(contraction) في معي ileum حيوان الـ guinea pig المعزول والذى أزيل بالمعاملة بالأتروبين ،كما أن مستخلص الإيثانول أدى الى زيادة في إنقباضات المعدة مما أدى إلى ثبات (persistent) التقلصات في الأمعاء . وأدت المعاملة بالمستخلص الإيثانولي الى إنخفاض في مستوى الصوديوم في السيرم مع إرتفاع بارز في مستوى البوتاسيوم ، ولايوجد تغييرات يمكن تقديرها في جلوكوز السيرم والكوليسترول وكريات الدم الحمراء والبيضاء ووقت تخثر الدم ومستوى الفيبرينوجين

في الفئران المعاملة ، كما أن خام المادة اللبنية له فعالية كمضاد للتجلط وتحليل الفيبرين (fibrinolytic) وذلك في بلازما الأرانب والإنسان. كما وجد أن لمستخلص المادة اللبنية سمية عالية على الكلاب والحمير .

وبين Derasari and Shah (1965) تأثير المستخلص الكحولي والمائي للجذور حيث أدت المعاملة الى حدوث تقلصات في العضلات اللاإرادية للأرانب والفئران بالإضافة الى رحم الفئران ، كما أعطى نفس المستخلص تأثير تنشيطي للتنفس وإرتفاع لضغط الدم في الكلاب المعاملة . كما وجد أن المستخلص الكحولي والمائي للجذور غير سام للفئران الكبيرة والصغيرة بجرعة أعلى من ٢جم /كجم عن طريق الفم .

لاحظ Al-Yahya *et al* (1986) أن لمستخلص الكلوروفورم والإيثانول تأثير على مادة acetylcholine في العضلات المستقيمة البطنية للضفادع (frog rectus abdominis muscle) كذلك تثبيط الإشارات الإلكترونية المسؤلة عن حدوث التقلصات في (phrenic nerve diaphragm) في الفئران ، كما لاحظ أيضا Al-Yahya *et al* (1985) أن لنفس المستخلص تأثير وذلك بزيادة قوة التقلصات في قلب الأرانب زيادة واضحة .

وفي دراسة Sharma (1934) وجد أن لمستخلص المادة اللبنية تأثير على القلب حيث أدت المعاملة الى بطء في معدل ضربات القلب وأيضا إلتهاب في المعدة عندما يحقن في كيس اللمف للضفادع.

وجد Garg-Achal (1979) أن تعاطى مستخلص الأوراق بجرعات لمدة ٣٠ يوماً عن طريق الفم أدى الى حدوث نخر في خصى الغنم الأسباني *Meriones hurrianae* كما أدى الى حدوث تلف في الكلى والى تورم في فصوص الكبد .

٢-٤ مركبات الجليكوسيدات القلبية (Cardiac glycosides)

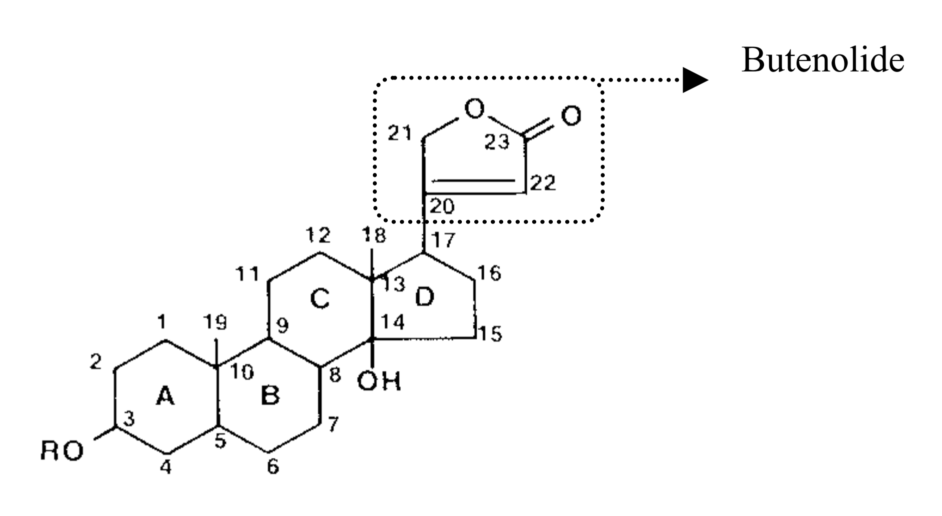
توجـد مجموعـة كبـيرة وضـخمة مـن النباتات المختلفة تصنيفيا تحوى العديد من مركبات الجليكوسـيدات القلبـية السـامة التى لها تاثير مباشر على القلب وعلى الأوعية الدموية وقد تؤدى الى الموت جراء تناول الحيوانات لها ، ومن أكثر هذه المركبات وأشهرها مركب Digitoxin والذى يوجد فـي نبات *Digitalis spp* حيث يستخدم هذا النبات منذ فترة طويلة بمعدلات علاجية وذلك في معاملة الإخفاقات في القلب في الإنسان والحيوان Adams (1995) .

و توجد هذه المركبات في ١١ عائلة نباتية هى
Lilaceae, Brassicaceae, Celastraeae, Asclepiadaceae, Apocynaceae, Tiliaceae Sterculiaceae, Scrophulariaceae, Ranunculaceae, Fabaceae, Moraceae.
كما ان هذه المركبات التى لها تأثير محدد على القلب توجد في ٣٤ جنس تابعة لهذه العائلات Hollman (1985) ، ويعتبر نبات *Asclepias spp* من أكثر النباتات التى تحوى هذه المجموعة والذي يؤدي الى تسمم المواشي في أمريكا الشمالية Sieber *et al* (1983)

٢-٤-١ التركيب الكيميائي للجليكوسيدات القلبية :

ومنها مجموعة cardenolides وهى مجموعة ستيرويد تحوي ٢٣ذرة كربون ولها التركيب التالى :

١. genin أو جزء (aglycone-portion) : وهو التركيب الأساسي حيث يحوي هذا الجزء ثلاثة حلاقات سداسية والرابعة خماسية وكذلك على مجموعة hydroxyl على موقعى ٣ والذى يرتبط به جزىء glycone باستبدال الهيدروجين وعلى موقع ١٤ والذى لايستبدل ، بالإضافة الى مجموعة butenolide وهى حلقة خماسية غير مشبعة والتى ترتبط على موقع ذرة الكربون رقم ١٧ ، كما ان الحلقات C-D and A-B تأخذ الشكل cis أما الحلقات B-C فتأخذ الشكل trans
٢. جزء glycone portion وتوجد مركبات cardenolide في الطبيعة على هيئة جليكوسيدات قلبية وتتكون بالإضافة الى الإرتباط في ذرة الكربون ٣ كذلك عل المواقع ١-٢-١١ لواحد او اكثر من جزء glycone .



التركيب العام لمجموعة الـSteroid

Calotropagenin (common genin) التركيب الأساسي لمركب

جدول (٤): مركبات مجموعة الكاردينوليد المعزولة من نبات العشار *C.procera*

المرجع	R_4	R_3	R_2	R_1	الصيغة الكيميائية	المركب
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	H	α-H, β-OH	Me	$C_{29}H_{42}O_8$	Gomphoside
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	OH	H	α-H, β-OH	Me	$C_{29}H_{42}O_9$	Afroside
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	H	α-H, β-OH	CHO	$C_{29}H_{40}O_9$	Calctin
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	H	α-OH, β-H	CHO	$C_{29}H_{40}O_9$	Calotropin
Singh and Rastogi (1972)	H	H	α-OAC, β-H	CHO	-	Asclepian
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	H	O	CHO	$C_{29}H_{38}O_9$	Uscharidin
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	H	N = CH, S — CH_2	CHO	$C_{31}H_{41}NO_8S$	Uscharin

Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	H	NH — CH_2 / S — CH_2	CHO	$C_{31}H_{43}NO_8S$	Voruscharin
Bruschweilier *et al* (1969a) Bruschweilier *et al* (1969b)	H	ε-OH	ε-H, ε-OH	CHO	$C_{29}H_{40}O_{19}$	Calotoxin
Akthar *et al* (1992)					$C_{23}H_{34}O_4$	Proceragenin
Bruschweilier *et al* (1969a)					$C_{23}H_{34}O_5$	Syrogenin
Bruschweilier *et al* (1969a)					$C_{29}H_{40}O_{10}$	Proceroside

هذا وذكر (1950) Hesse *et al* أن هذه المركبات (الجليكوسيدات القلبية) تتميز بعدم الثبات الكيميائي فمثلا مركب calactin يحدث له تحول في وجود الحمض إلى المركب الأساسي aglycon calotropagenin وكذلك مركب uscharidin يتحول بالإختزال (partial reduction) الى مخلوط من مركبات calactin,calotropin .

كما أشار أيضا (1959) Hesse and Mix إلى أن مركبى uscharin, voruscharin تحولا الـى مركـب uscharidin بفعـل الحمض أو الزئبق حيث يتسبب في التميؤ hydrolysis لمجموعة spiro thiazoline and thiazolidine rings وذلـك علـى ذرة الكربون رقم ٣ ، كما أن مجموعة الألدهـيد CHO على ذرة الكربون ١٩ لمركبي calotropin or calotropagene يحدث لها أكسدة سريعة الى أحماضها في وجود الهواء والضوء.

uscharin

H_2O

uscharidin

(H)

calactin - calotropin

شكل (١) : التحول الكيميائي لمركب Uscharin, Sieber *et al* (1981)

٢-٤-٢ سمية الجليكوسيدات القلبية :

توجد هذه المركبات في معظم أجزاء النبات وخاصة في الأوراق ، كما أن كميات قليلة من النبات تكفى لإحداث تأثير سام بالحقن ، فجرعة مقدارها ٥٠مجم/كجم من الأوراق الخضراء لنبات oleander كانت كافية لإحداث الموت في الأغنام والخيل. كما تؤثر هذه المركبات على القناة الهضمية مسببة نزيف داخلي وآلام في البطن وإسهال(Kingsbury (1964 .

كما أن الحيوانات التى تتغذى على نباتات تحوى هذه المركبات يحدث لها تأثير على القلب ثم إضطراب في الهضم قبل الموت Benson *et al* (1979) .

إن آلية العمل التى تحدث بها هذه المركبات فعلها السام عديدة ولكن من أكثرها وضوحاً هو تثبيط إنزيم الصوديوم بوتاسيوم في أغشية الخلايا (Na^+-K^+ ATPase) والمسؤل عن إنتاج الطاقة اللازمة لتبادل أيونات الصوديوم والبوتاسيوم عبر أغشية الخلايا Joubert (1989) ، ويوجد هذا الإنزيم في معظم الخلايا وفي خلايا عضلات القلب ويعتبر الهدف الرئيس للتأثير السام لهذه المركبات وبالتالى يؤدي هذا التأثير الى التقليل في عملية التوصيل الكهربائي في القلب مما يؤدي الى نشاط غير طبيعي وأخيراً توقف لنشاط القلب ، ولكن هذه التأثيرات السامة لهذه المركبات تقابلها تأثيرات علاجية therapeutic effect _ عند جرعات منخفضة _ لعلاج أمراض القلب ، ويتم الفعل العلاجي بآليتين :

١. Inotropic effect : وهى خاصية إحداث زيادة في قوة التقلصات من عضلة القلب.
٢. Chronotropic effect: وهى خاصية التقليل في معدل القلب.

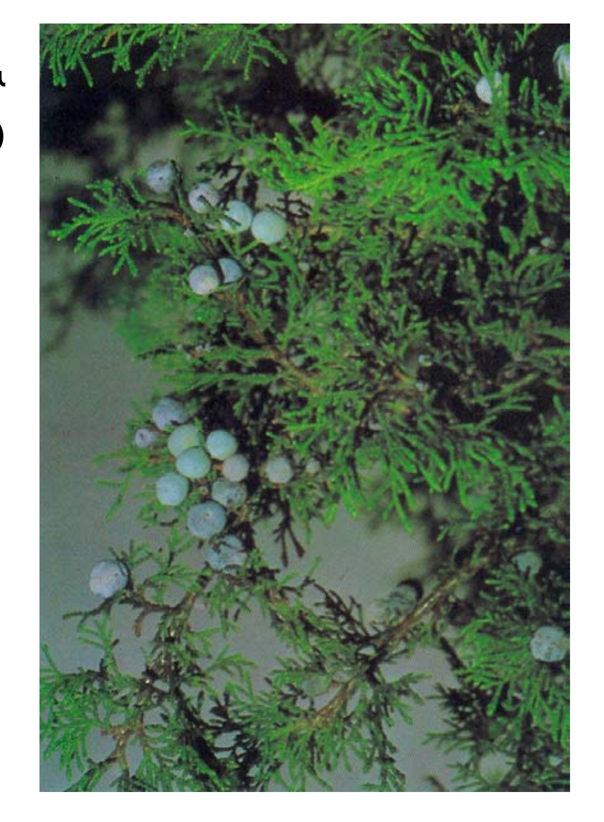
لذا فالجرعات السامة تسبب خلل في النظم وإرباك في معدل التوصيل خلال عضلة القلب ممايؤدي الى الموت . ومن العلامات التشخيصية للتسمم عدم إنتظام في القلب تتمثل في سرعة خفقان القلب يعقبها إنحصار في القلب heart block . ولهذا فإن هذه المركبات تتصف بضيق حد أمانها أي ضيق الفرق بين الجرعة السامة والعلاجية Katzung (1987) .

كما ذكر Siemens *et al* (1995) بعض الأعراض الشائعة في الحيوانات التى يحدث لها تسمم بهذه المركبات وهي حدوث آلام بطنية (أعراض تشبه المغص colic) وإسهال ، أما الأعراض الأولية فتتلخص في حدوث سرعة في التنفس وبرودة في الأطراف وضعف عام وإضطراب في النبض ، كما أن الفترة الزمنية بين ظهور الأعراض والموت تقدر بحوالي ٢٤ساعة ، كما أن التشنجات قبل الموت غير شائعة ،وفي السمية الحادة بنبات oleander الذى يحوي هذه المركبات وجد _تشريحيا _ نزيف داخلي وإحتقان وضمور في خلايا الأعضاء للتجويف البطني والصدري ، وفي السمية الأقل من الحادة لوحظ نخر وضمور في عضلة القلب.

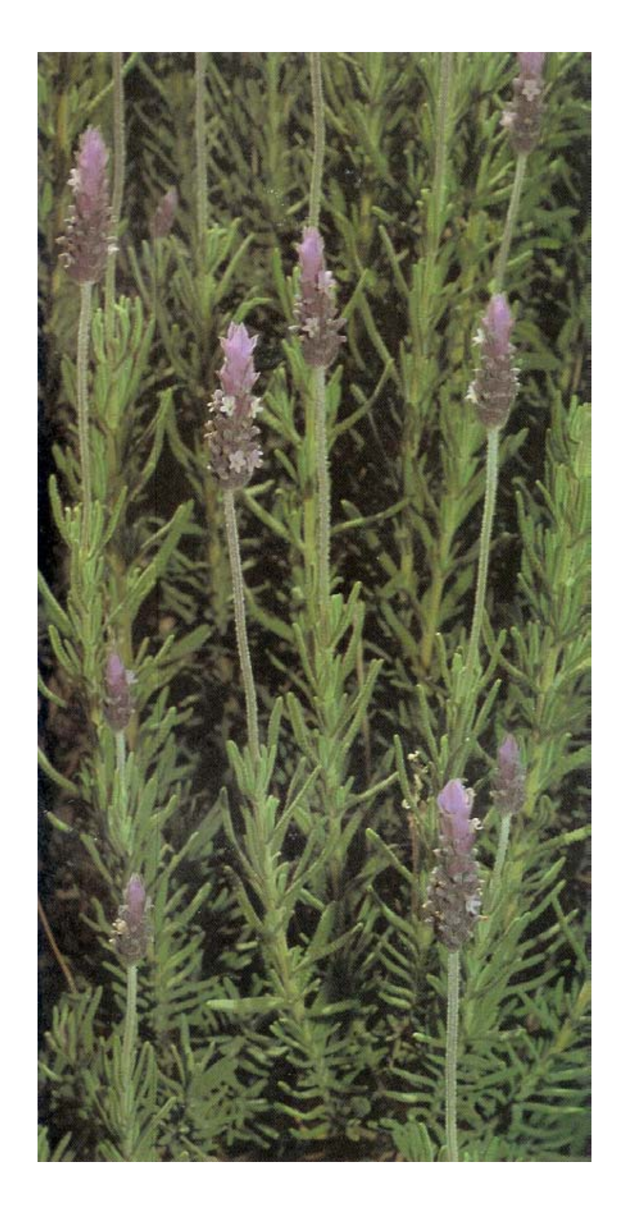
وفي دراسة أخرى أجراها Sieber *et al* (1983) على هذه المركبات وجد أن الحيوانات المعاملة يحدث لها بطء في الحركة وكمون وزيادة وصعوبة في التنفس كما تأخذ الحيوانات وضع الإنبطاح على موضع البطن مع حركة سريعة في الأطراف مع وجود بعض الإرتعاشات وبشكل دقيق تشنجات ، كما تظهر الأعراض بعد دقائق فقط من معاملة الفئران الصغيرة بالجرعات ، كما يصاحب حدوث الموت تشنجات قوية ، وغالبا ما يحدث الموت خلال ١_٢ ساعة ، لوحظ أن الفئران التى أعطت أعراض واضحة ولم تصل الى مرحلة الموت لاتظهر عليها أى أعراض مرض في الأيام التى تعقب المعاملة ، ولا يحدث أى ضرر واضح للفئران التى تموت خلال ٢٤ ساعة ، أما الحيوانات التى يحدث لها موت بطىء في الأيام التى تعقب المعاملة فيلاحظ حدوث نزيف في الرئة ، كما وجد أن القطط أعلى حساسية من الفئران الصغيرة في درجة التسمم وأكثر حساسية لجزء الجليكوسيد من جزء الـ genin .

جدول (٥) السمية الحادة (LD_{50}) لعدد من مركبات الكاردينوليد على القطط بالحقن الوريدي

مركب الكاردينوليد	LD_{50} (mg/kg)	المرجع
Calotropin	٠,١١٨ ٠,١٠٥	Bruschweilier *et al* (1969a) Chen et al (1942)
Calctin	٠,١١ ٠,١١٨ ٠,١١٨	Detywielier (1967) Chen (1970) Bruschweilier *et al* (1969a)
Uscharin	٠,١٤٤	Bruschweilier *et al* (1969a)
Proceroside	٠,١٩٩	Bruschweilier *et al* (1969a)
Asclepian	٠,٢٣٦	Pantanik and Kohler (1978)
Uzarigenin	١,٣٨	Chen (1970)
Uscharidin	١,٤	Bruschweilier *et al* (1969a)
Calotropagenin	١,٥٢ ٢,٥٧	Chen (1970) Bruschweilier *et al* (1969a)



شكل (٢) : نبات العرعر *J.procera*
Sheila (1985)



شكل (٣): نبات الجتجات *L.dentata*
Sheila (1985)



شكل (٤) : نبات العشار *C.procera* Sheila (1985)

٣ - المواد وطرق العمل:

٣-١ المواد:

٣-١-١ العينات النباتية :

نبات العشار *Calotropis procera*: يتبع عائلة Asclepiadacea R.Br. وهو نبات شجيري معمر، طوله ٣-٥ متر والأوراق كبيرة وواسعة وشبه لحمية ذات لون أخضر باهت بالساق مخملية الملمس يصل طولها الى ٢٠ سم ، اللحاء فليني حليبي ، الأزهار خضراء من الخارج وزهرية من الداخل ، الثمار كيسية الشكل كبيرة منتفخة إسفنجية خضراء طولها يصل الى ١٥ سم . تم جمع المادة اللبنية للنبات على عدة مراحل (العينة رقم ١ شهر اكتوبر ٢٠٠٢م من منطقة الرياض _ العينة رقم ٢ شهر مايو من شرق مدينة جدة ٢٠٠٣م) .

نبات العرعر *Juniperus procera* : ويتبع عائلة Cupressaceae S.F. GRAY وهو عبارة عن نبات شجري أو شجيري الأوراق شبه أبرية ومتدرجة ومتراكبة ، الثمار الناضجة لحمية ذات لمعة وشكل مخروطي والفروع أيضا بنية محمرّة والأوراق الجافة ذات لون بني . تم جمع الأفرع الحديثة للنبات من منطقة السودة في أبها في نهاية شهر يناير ٢٠٠٣م .

نبات الجنجات *Lavandula dentata* : يتبع عائلة Labiatae A. Juss وهو نبات معمر عشبي أو شجيري ، السوق رباعية الزوايا وعارية من الأعلى وبطول ١٠ سم ،الأوراق رفيعة ، الأزهار بنفسجية أو زرقاء ، الأغصان سميكة . تم جمع الأجزاء الهوائية للنبات من منطقة السودة في أبها في نهاية شهر يناير ٢٠٠٣ م (Migahid (1996 .

وتم تعريف النباتات من قبل د.أحمد الفرحان في المعشبة النباتية في قسم النبات –كلية العلوم – جامعة الملك سعود .

٣-١-٢ المواد الخاصة بطرق الفصل (chromatography):

- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin-layer chromatography (TLC)

ومواصفاتها كالتالى:

- percoated silica gel 60 (merck), glass plates ,5x10 cm , 0.25 mm with F_{254}
- percoated silica gel 60 (merck) , glass plates, 20x20 cm ,0.25 mm .

وأستخدم نظام المذيب :

Solvent system
A : $CHCl_3$: Benzene (50:50)
B : EtOAc : MeOH (85:15)
C : EtOAc : MeOH (97:3)
D : EtOH/ $CHCl_3$ (5:95)

مع إستخدام الكواشف التالية :

١. Kedde's reagent: للكشف عن مركبات الكاردينوليد التابعة للجليكوسيدات القلبية ويتكون من 3.5-dinitrobenzoic acid 2% + NaOH 20%
٢. H_2SO_4/Vanilic acid: مع التسخين على ١٠٠ درجة مئوية وذلك للكشف عن الزيوت الأساسية .

- كروماتوغرافيا السائل منخفض الضغط

Low pressure liquid chromatography

أستخدم في ذلك عمود ٢,٥ x٦٠ سم ومادة الإدمصاص
silica gel 60 for TLC(BDH)

- كروماتوغرافيا العمود Column chromatography

تم إ ستخدام مادة إدمصاص silica gel G (0.063-0.2 mm) , (70-230 mesh) Merck وطول العمود 5x ٦٠ سم.

٣-١-٣ الأجهزة :

- جهاز التبخير:

تم تبخير المذيبات بجهاز تبخير من نوع
Buchi rotary evaporator model B-177 ,Buchi 461 water bath
عند درجة حرارة ٤٠ درجة مئوية .

- جهاز تحليل مطياف الأشعة فوق البنفسجية:

UV-Visible Spectrophotometer , UV-1201, Shimadzu(Japan)

- جهاز كروماتوغرافي الغاز /مطياف الكتلة :

وأستخدم الجهاز للكشف عن المركبات المتطايرة في النباتات العطرية وذلك بالمواصفات التالية
Agilent 6890 , column HP-5MS (30m x 0.25 mm i.d- 0.25um film thickness) , carrier gas :Helium(1ml/min) , Oven temperature (Initial temp 50 °C\3 min)- final temp250 °C at rate 2 °C\1 min- kept constant at 250 °C\1 min ,

Splitless injection. MS measurement at 70 eV. Mass Range m/z 50-550. Library (Wiley 7th , NIST2002).

بالإضافة الى المجزءات الزيتية المعزولة من العشار والتى تم الكشف عنها نفس المواصفات بإستثناء برنامج درجة الحرارة كالتالى:

Initial temp 90 °C\1 min, final temp 280 °C at rate 20 °C\4 min, kept constant at 280 °C\ 15 min

- جهاز الطرد المركزي :

Beckman Model J-21C Centrifuge (15000 rpm-4 °C-15 min)

- جهاز الطحن الآلي Homoginizer :

Ultra-turrax T25 basic (13.500-17.500 1\min)

- جهاز الكشف على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة(TLC) :

UV-Lamp at 254 nm

٣-١-٤ الكائنات الحية المستخدمة :

- البكتيريا :

تم إستخدام أنواع من البكتيريا الحساسة المسببة لبعض أمراض النبات بالإضافة الى مسببات لبعض الأمراض في الإنسان معزولة في معمل أمراض النبات _كلية الزراعة وهى :

Xanthomonas translucens (gram negative)
Pseudomonas corrugata (gram negative)
Escherichia coli (gram negative)
Bacillus subtillus (gram positive)

- الفطريات :

تم إستخدام أنواع من الفطريات المسببة لبعض الأمراض في النباتات والمعزولة أيضا من نباتات إقتصادية في مختبرات أمراض النبات _كلية الزراعة وهى :

*Fusarium oxysporium (*soy bean)
Pythium ultimum (Bean)
Rhizoctonia solani (Eggplant)
*Dothorella mangiferae (*Mango)
*Cholora porodoxa (*Date palm)

Fusarium proliteratum (Date palm)
Phoma glomerata (Date palm)

- البعوض :

يعتبر البعوض من الحشرات الطبية والتى تنقل أمراض للإنسان ، وتم إستخدام سلالة تم تربيتها لمدة سنة في مختبر الحشرات _كلية الزراعة من نوع
(culicidae) *Culex pipiens* وذلك للطور اليرقي والعمر بداية الثاني إلى العمر الثالث متأخر.

- القواقع :

تسبب القواقع الزراعية (القواقع الأرضية Land snail) الكثير من الخسائر الإقتصادية لمحاصيل الخضروات والفاكهة ، وتم إستخدام نوع *Thepa pisana* والعينات تم الحصول عليها من كلية الزراعة _جامعة الإسكندرية _جمهورية مصر .

- الفئران :

تم إستخدام ذكور فئران التجارب الصغيرة البيضاء mice من سلالة SWR بأعمار ٢-٣ أسبوع ، وأوزان ٢٥ - ٣٠ جم (تم الحصول عليها من قسم علم الحيوان-كلية العلوم).

٣-٢ طرق العمل :

٣-٢-١ الإستخلاص :

٣-٢-١-١ إستخلاص وعزل الزيوت الأساسية Essential oils من النباتات:

تم إستخلاص الزيوت الأساسية من الأجزاء الهوائية لنباتي العرعر والجتات بإستخدام طريقة التقطير التجزيئي (steam distillation) Al-Rajhi *et al* (2000) ففي حالة نبات العرعر تم طحن الأوراق من الأفرع حديثة النمو بعد تجفيفها ثم تقطيرها بمعدل ٢٠٠جم (مطحون الأوراق الجافة) / ١ لتر ماء مقطر ، أما نبات الجتجات تم أخذ الأوراق من كامل النبات وتم تجفيفها وطحنها ثم تقطيرها بمعدل ٥٠جم/٥٠٠ مل ماء مقطر وجميعها تم تقطيرها لمدة أربع ساعات ، بعد ذلك تم إستخلاص الزيت من الماء الناتج من التقطير بإستخدام كروماتوغرافي السائل -السائل بمذيب الإيثر ٤٠٠ مل/على دفعتين ، ثم التخلص من الزائد من الماء بصوديوم كبريتات لامائي Na_2SO_4 ، بعد ذلك تم تبخير مذيب الإيثرعلى جهاز التبخير تحت تفريغ .

وتم الكشف عن المركبات في المستخلص الخام للزيوت بإستخدام جهاز كروماتوغرافي الغاز/مطياف الكتلة GC/MS .

٣-٢-١-٢ تجزيء المركبات Fractionation لخام مستخلص الزيت لنبات العرعر *J.procera* :

كنتيجة لفعالية المستخلص الخام لزيت العرعر على حشرات البعوض تم تجزيء زيت العرعر (٣ جم من المستخلص/ ٣مل من مذيب البتروليم ايثر) إلى مجزءات تحوى أقل المركبات وأكثر فعالية بإستخدام طريقة عمود الكروماتوغرافي منخفض الضغط LPLC (٢,٥ x ٦٠ سم) ومادة إدمصاص ١٥٠ جم من السيليكا (silica for TLC BDH) ، وبنظام إزاحة (gradient elution) كالتالى :

1. Pet.ether 100%
2. Pet.ether 75% / Ether 25 %
3. Pet.ether 50% / Ether 50%
4. Pet.ether 25 %/ Ether 75%
5. Ether 100%
6. Ether 80% / Acetone 20%
7. Ether 50% / Acetone50%
8. Acetone 100%

9. Acetone 95%/ MeOH

وذلك بمعدل ٢٠٠ مل لكل نظام / ٤ مجزءات (٥٠ مل / مجزء) .

بعد ذلك تم تبخير كل مجزء إلى حوالى ١٠ مل ثم إجراء إختبار كروماتورغافي الطبقة الرقيقة على ألواح ٢٠x ٢٠ سم مع نظام مذيب A ثم إستخدام جوهر الكشف عن الزيوت الأساسية وهو حمض الكبريتيك/فانيلين مع التسخين على درجة حرارة ١٠٠ درجة مئوية لمدة ٥ دقائق.

تم ملاحظة المجزءات المتشابهة في قيم الـ (Rf) ثم دمجها في مجزء واحد للحصول على مجزءات تحوى أقل عدد في المركبات لإختبار فعاليتها على البعوض.

٣-٢-١-٣ إستخلاص المركبات الكيميائية من نبات العشار. *C procera*

- **العينة رقم ١:**

طبقاً لـ Hussien *et al* (1994)

الإستخلاص:

تم جمع ٧٠٠ مل من المادة اللبنية للنبات من منطقة الرياض في أكتوبر ٢٠٠٢م في زجاجيات بنية اللون بمعدل ٥٠% مادة لبنية/ إيثانول. ثم الترشيح على قمع بخنر لفصل الراشح ١ عن الراسب ١ ثم غسيل الراسب ١ بالميثانول مع التسخين ليعطى راشح ٢ مع الراسب ٢ حيث يهمل الراسب أما الراشحان ١و٢ تم جمعهما ثم تجزئتهما بواسطة٤٥٠ مل/ كلوروفورم على دفعتين ليعطي المستخلص القطبي (مستخلص الماء والكحول) والمستخلص غير القطبي (مستخلص الكلوروفورم) ، ثم تجزىء المستخلص غير القطبي بالبترووليم إيثر ١٥٠ مل على دفعتين ، والناتج من جزء البتروليم ايثر عومل بالصوديوم كبريتات لامائي ثم بخر للجفاف ليعطى المجزء F_1 وهو عبارة عن ٠,٥جم مادة زيتية ، أما جزء الكلوروفورم فقد تم معاملته أيضاً بصوديوم كبريتات لامائي وتبخيره الى الجفاف حيث كان الناتج ٢,٣٣جم .

التنقية :

الكمية النهائية الناتجة من جزء الكلوروفورم ٢,٣٣ جم هي عديد من المركبات الأساسية في النبات (primary and secondary metabolites) مثل البروتينات والدهون بالإضافة الى مركبات المجموعة الفعالة الكاردينوليد ومركبات الـTtiterpene لذلك تم إجراء خطوة التنقية كخطوة نهائية ومحددة للحصول على هذه المركبات بصورة نقية ومركزة وذلك كالتالى : تم إضافة ٧٠ مل إيثانول الى الكمية النهائية ٢,٣٣ جم ثم إضافة ١٠ مل (٥٠٪ خلات الرصاص) للوصول الى الترسيب ويهمل

الراسب بعد ذلك تم إضافة ٥ مل (٣٠٪ امونيوم سلفات) للتخاص من الزائد من خلات الرصاص للوصول الى الترسيب ، ثم تم إجراء طرد مركزي (٦٠٠٠ لفة /دقيقة) لمدة ٤ دقائق للتخاص من الرواسب ، بعد ذلك تم ضبط رقم الحموضة لنقطة التعادل بإستخدام $NaHCO_3$ 5% ثم بالماء المقطر، و معاملة الراشح بصوديوم كبريتات لامائي والناتج ٠,٧ جم .

- العينة رقم ٢:

طبقاً لـ Hussien *et al* (1994)

تم جمع ٢٤٠٠ مل من المادة اللبنية للنبات من مدينة جدة مايو ٢٠٠٣ م بمعدل ٥٠٪ مادة لبنية/ إيثانول . تم أخذ ٨٠٠ مل من العينة والترشيح على قمع بخنر والراسب تم غسله بالميثانول ٥٠ مل مع التسخين ويهمل الراسب الأخير ، ثم تم تركيز العينة الى ٥٠٠ مل بالتبخير ، بعد ذلك تم الترسيب بـ ٤٠ مل (٥٠٪ خلات رصاص) مع التقليب ثم إضافة ١٠ مل (٣٠٪ امونيوم سلفات)، مع حساب الرقم الهيدروجيني ومعادلة القيمة بإستخدام $NaHCO_3$ 5% ثم بالماء للوصول الى التعادل ، ثم التخاص من الراسب، ثم فصل الناتج بإستخدام كروماتوغرافي السائل-سائل بمذيب الكلوروفورم ٣٠٠ مل على ثلاث دفعات، كذلك تم معادلة قيمة الرقم الهيدروجيني بالغسيل بالماء، وبعد التأكد من ثبات الرقم الهيدروجيني تم التبخير الى درجة الجفاف بعد معاملتها بصوديوم كبريتات لامائي، والناتج النهائي للكمية النهائية ١٢٠٠مل مادة لبنية ٦,٥جم (مجموعة من مركبات الكاردينوليد).

التقدير اللوني للمادة الخام النقية Spectrophotometric Assay :

وفي هذا الإختبار تم قياس الكثافة الضوئية للعينة النقية ومقارنتها مع عينة تجارية (Sigma extract) بالإضافة الى مركب قياسي Digitoxin(WinLab) وذلك لمعرفة مدى نقاوة العينة وتركيز مجموعة الكاردينوليد في العينة ، بإستخدام جهاز UV-Spectrophotometer وجرى الإختبار طبقاً لـ طريقة Duffey and Scudder (1972) مع إستخدام كاشف 3.5-dinitrobezoic acid 2% بدلاً من الكاشف tetrnitrodiphenyl (TDNP) ، والتراكيز المستخدمة كانت ٢٥-٥٠-٧٥-١٠٠ جزء في المليون ، ومن الكثافة الضوئية تم حساب التركيز، وكانت الإضافات كالتالى:

١,٨ مل ايثانول + ٠,١ مل من تركيز العينة + ١ مل من الكاشف (3,5-dinitrobenzoic acid 2%) +٠,١ مل NaOH 30% وتم أخذ القراءة على طول موجي ٥٦٥ نانوميتر.

٣-٢-١-٤عزل وتجزىء Fractionation مركبات الكاردينوليد من نبات العشار:

تم إستخدام طريقة عمود الكروماتوغرافي ومادة إدمصاص من نوع سيليكا
0.063-0.2 mm, 70-230 mesh, merck
ثم تم إذابة ٤ جم من المادة الخام (من العينة رقم ٢) بالكلوروفورم وإضافتها الى كمية السيليكا ١٥٠ جم على العمود ثم إستخدام نظام المذيب التالى

نظام المذيب (Solvent System) والذى أتبعه Sieber *et al* (1982) :

- $CHCl_3$ 100 %
- $CHCl_3$ 75% /EtOAC 25%
- $CHCl_3$ 50%/ EtOAC 50%
- $CHCl_3$ 25%/EtOAC 75%
- EtOAC 100%
- MeOH 2%/ EtOAC 98%
- MeOH 5%/EtOAC 95%

وذلك بمعدل٢٠٠ مل لكل نظام مذيب مجزئة على ٥٠ مل/٤ مجزءات ، بعد ذلك وباستخدام نظام مذيب C على ألواح ٢٠ x ٢٠ سم تم إختبار جميع المجزءات وذلك لمعاينة عدد المركبات في كل مجزء وجمع المجزءات المتشابهة بعد الرش بجوهر الكشف عن مركبات الكاردينوليد Kedde`s reagent . والمركبات التى لاتحوي مركبات مجموعة الكاردينوليد تم الكشف عليها بإستخدام جهاز الـ UV وبألواح ٥ x١٠ سم .

٣-٢-٢ إختبارات التقييم الحيوي :

٣-٢-٢-١ التقييم الحيوي على البكتيريا :

وأستخدم في الإختبار طريقة الإنتشار على ورق ترشيح Disc diffusion method طبقا لـ طريقة Lannette (1985) لإختبار فعالية مستخلصات العشار والمجزء F_1 والزيوت الأساسية *L.dentata, J.procera* بتركيز ١٠٠٠ جزء في المليون على البكتيريا موضع الإختبار:

وتم الإختبار كالتالى :

- التركيز: تم تحضير تركيز ١ مجم/١ مل (١٠٠٠ جزء في المليون) من جميع المستخلصات في مذيب dimethylsulfoxide (DMSO) .
- بيئة نموالبكتيريا: وهي من نوع PDA (potatoes dextrose agar) بمعدل ٣٩,٥جم/١ ليتر لكل طبق ٢٠ مل.
- تحضير المعلق البكتيري: يؤخذ بالماء المقطر المعقم كمية بسيطة على سطح النمو البكتيري ويخدش بالإبرة ذات العقدة ثم تصب في بيئة سائلة (بيئة من النوع السائل) وتحضن على ٣٧ درجة مئوية /٢٤ساعة لضمان كثافة في النمو البكتيري كمعلق مركز ، بعد ذلك يؤخذ من المعلق المركز ١ مل (ماء مقطر معقم) ويصب في أنبوبة ٩ مل ماء (تخفيف ١/١٠) ويؤخذ من الأخير ١ مل في ٩ مل (تخفيف ١/١٠٠) وهكذا للوصول الى تركيز ١/١٠٠٠٠ وهو التخفيف المستخدم .
- المعاملة : أستخدمت أوراق ترشيح معقمة (ديسكات ٨ ملم) وعومات بحجم ٤٠ ميكروليتر من تركيز المستخلص وهو ١٠٠٠ جزء في المليون (يعادل ٤٠ ميكروجرام/قرص) ووضع ٣ معاملات في الطبق بينما يمثل الرابع طبق المقارنة DMSO وبواقع ثلاث مكررات ، وحضنت عند درجة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤-٤٨ ساعة حسب نوع البكتيريا .

٣-٢-٢-٢ التقيم الحيوي على الفطريات :

تم إستخدام طريقة الطعام المسمم طبقا لطريقة Reyes Chilpa *et al* (1997) لإختبار فعالية مستخلصات العشار والمجزء F_1 والزيوت الأساسية للعرعر والجتجات على الفطريات موضع الإختبار وذلك بتركيز ١٠٠٠ جزء في المليون كالتالى :

- التركيز : حضر تركيز قياسي ٢٠٠مجم/ ٢مل (DMSO) يعادل ١٠٠٠٠٠جزء في المليون (وهو التركيز القياسي أ).

٠,٢مل (من التركيز القياسي أ) + ١٩,٨مل من البيئة وهو يعادل ١٠٠٠ جزء في المليون.

- بيئة نمو الفطر: ٣٩,٥جم/ لتر PDA
- تحضير الفطريات : تم تحضير نموات حديثة من الفطر المستخدم ويؤخذ بثاقب فليني بقطر ٣ ملم من طرف نمو قرص الفطر.
- المعاملة: يتم إضافة ٠,٢مل من التركيز القياسي في الطبق وإضافة البيئة ١٩,٨مل وهذا يعادل ١٠٠٠جزء في المليون، ثم يوضع قرص الفطر حديث النمو (٣ ملم) في منتصف الطبق ويحضن لمدة مختلفة حسب نوع الفطر، بعد ذلك يقاس قطر النمو الهيفي (ثلاث مكررات مع المقارنة).
- النتائج :تم حساب النسبة المئوية للتثبيط (قياس القطر بالملم) حسب المعادلة :

$$= \frac{\text{النمو الهيفي في المقارنة} - \text{النمو الهيفي في المعامل}}{\text{النمو الهيفي في المقارنة}} \times ١٠٠$$

٣-٢-٢-٣ التقييم الحيوي على البعوض :

تم إختبار وحساب قيمة التركيز القاتل النصفي على يرقات العمر الثاني متأخر الى بداية العمر الثالث لبعوض *Culex pipiens* وذلك بإستخدم تراكيز من ١٠ –١٠٠ جزء في المليون للمجزء F_1 والزيوت الأساسية للعرعر والجتجات.

وتم الإختبار طبقا لـ Ikeda *et al* (1998) بإضافة الوزن من المادة المختبرة للتركيز المطلوب ويضاف في حالة المستخلصات الزيتية مادة Tween 80 /EtOH 1% وذلك بمعدل ٠,٣ مل / ١٠٠ مل ماء مقطر ثم يكمل بالماء المقطر للحجم المناسب للحصول على مستحاب، أما المستخلصات الصلبة فقد تم إضافة مذيب الإيثانول بنفس المعدل ، وذلك بمعدل ثلاث مكررات مع المقارنة .

وكانت التراكيز للمجزء F_1 ١٠-٢٠-٤٠-٦٠-٨٠ جزء في المليون ، وللمستخلص الخام لزيت العرعر *J.procera* ٤٠-٦٠-٨٠-١٠٠ جزء في المليون ، وللمستخلص الخام لزيت الجتجات *L.dentata* ١٠٠٠ جزء في المليون . هذا بالإضافة الى المجزء F_{211} والمعزول من زيت العرعر والذى تم إختبار وتحديد فعاليته بتركيز ١٠٠ جزء في المليون مقارنة بباقي المجزءات ثم بتراكيز٢٠-٤٠-٦٠-٨٠-١٠٠ جزء في المليون بعد التأكد من فعاليته. والمجزء F_{112} والمعزول من المادة الخام للعشار بتراكيز ١٠-٢٠-٣٠-٤٠-٥٠ جزء في المليون . كذلك المجزء F_{110}, F_{115},F_{116} بتركيز

١٠٠ جزء في المليون . وذلك لثلاث مكررات بمعدل ١٠-٢٠ يرقة/مكررة مع المقارنة مع إستخدام معادلة أبوت لتصحيح نسب الموت.

٣-٢-٢-٤ التقييم الحيوي على القواقع الزراعية :

تم إختبار وحساب قيمة الجرعة القاتلة النصفية على القواقع طبقا لـ طريقة Hussien *et al* (1994) بمعاملة القوقع بالميكروجرام/ قوقع بإستخدام الماصة الدقيقة على منطقة القدم. ففي حالة المجزء F_{112} والمعزول من العشار بتركيز ٢ مجم/٣ مل(DMSO10%/H_2O) ثم معاملة القواقع بجرعات ٣,٣ - ٦,٦-١٠-١٣,٣ ميكروجرام/ القوقع أي مايعادل٤,٧- ٩,٤-١٤,٢٨-١٩ مجم/كجم. على أساس متوسط وزن القوقع ٠,٧ جم.

كذلك المجزء F_{116} بتركيز ٢مجم/ ٣مل ومعاملة القوقع بجرعة ١٣,٣ ميكروجرام/قوقع أي مايعادل ١٩ مجم/كجم، والمجزئين F_1-F_{115}، بتركيز ٢ مجم/٢ مل بجرعة ٢٠ميكرجرام/قوقع أي مايعادل ٢٨,٥ مجم/كجم.

وتم إختبار فعالية مبيد اللانيت (٩٠٪ ميثوميل) بتركيز ٥٩,٢مجم/ ٥مل (DMSO 10%/H_2O) ، ثم معاملة القوقع بجرعات ١٠-٢٠-٤٠- ٦٠-٨٠ ميكروجرام/قوقع أي مايعادل ١٤,٢-٢٨,٥-٥٧,١-٨٥,٧-١١٤,٢ مجم/كجم . ومقارنة النتائج بالمقارنة .

كذلك معاملة القواقع بالزيوت الأساسية لنباتي العرعر والجتجات بجرعة ١٧٥ميكروجرام/قوقع أي مايعادل ٢٥٠ مجم/ كجم . وذلك لثلاث مكررات بمعدل ٥ قواقع/مكررة مع المقارنة وإستخدام معادلة ابوت لتصحيح نسب الموت.

٣-٢-٣ إختبارات التقييم السمي :

٣-٢-٣-١ إختبار الجرعة النصفية القاتلة LD_{50} على ذكور الفئران الصغيرة:

لحساب قيم الـ LD_{50} تم معاملة الفئران الصغيرة البيضاء من سلالة SWR ذات أعمار من أسبوعين الى ثلاثة وذلك بالحقن داخل الغشاء البريتوني Intraperitonial injetion(IP) ، وبمعدل ١ ٪ من وزن الفأر. ففي حالة مجزءات $F_{110,111,112,113,115,116}$ بالإضافة الى المجزء F_1 (oil fraction) المعزول من نبات العشار تم المعاملة بجرعة موحدة ٣٠ مجم/كجم ، أما زيت العرعر فتمت المعاملة بجرعة ١٥٠٠مجم/كجم ، كذلك المجزء F_{112} بجرعات ٦-٧-٨-١٠ مجم/كجم .

٣-٢-٣-٢ اختبار نشاط الأسيتايل كولين استيريز AChE:

تحضير المحاليل:

منظم حموضة فوسفات (0.1M) pH= 8 : يذاب ١٥,٦ جم من (Na_2HPO_4) ثاني صوديوم هيدروفوسفات في ٧٥٠ مل ماء مقطر ثم يضبط بواسطة نقط من محاول HCl 1 N حتى الوصول الى الرقم الهيدروجيني ٨ ثم يكمل الحجم النهائي بالماء المقطر الى لتر.

مادة التفاعل Acetylthiocholine iodide (ASChI) (75 mM): يذاب ٥٤,٢ مجم من مادة ASChI في ٢,٥ مل ماء مقطر ويحفظ في زجاجة وتكون صالحة لمدة ٤ ايام.

مادة Dithionitrobenzoic acid (9.8 mM) : يذاب ٣٩,٦ مجم من المادة في ١٠ مل منظم حموضة فوسفات بالرقم الهيدروجيني ٨ ويضاف ١٥ مجم بيكربونات صوديوم $Na_2\ HCO_3$ ويحفظ في زجاجة ويكون صالح لمدة اسبوعين .

الإنزيم : تم قتل الفئران بطريقة فصل العنق بعد ١٠ دقائق من المعاملة والقواقع بالتجميد على درجة الصفر المئوي و يضاف بمعدل ١ جم (من وزن مخ الفأر- جسم القوقع كامل) / ١٠ مل منظم حموضة فوسفات (pH=8) ، ثم يطحن جيدا بجهاز الطحن الآلى ، ثم إستخدام جهاز الطرد المركزي ١٠٠٠٠ لفة في الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة على حرارة ٤ درجات مئوية، ثم يؤخذ الراشح supernatant ويكون جاهزاً للإختبار .

طريقة التقدير:

باستخدام طريقة Elman *et al* (1961)

يضاف ٢,٨ مل من بفر فوسفات PH=8 ثم يضاف ١٠٠ ميكروليتر من الأنزيم +١٠٠ ميكروليترDTNB +٣٠ ميكروليتر من مادة التفاعل ASChI وقراءة الكثافة على طول موجي ٤١٢ نانوميتر بعد ٥ دقائق والمقارنة مع عينة المقارنة.

٣-٢-٣-٣ اختبار نشاط Na^+-K^+-ATPase

تحضير المحاليل :

أولا محاليل الإختبار:

- Buffer Tris-HCl (40mM)pH 7.4 :

ويحضر بإذابة ٢,٤٢ جم Tris(hydroxymethyl) aminomethane في ٤٠٠ مل ماء مقطر ، ومعادلة الرقم الهيدروجيني الى ٧,٤ باستخدام HCl 1 N ويكمل الحجم الى ٥٠٠ مل بالماء المقطر .

- Rx Solution :

ويحضر بإذابة ٢,٤٩ جم NaCl + ٠,٤٣ جم $MgCl_2$ + ٠,٦٣ KCl في ٢٥٠ مل من محلول Tris-HCl buffer pH 7.4

- Buffer Tris-sucrose-EDTA pH 7.4 (T.S.E) :

ويحضر بإذابة ٢٧,٣٤٨ جم sucrose + ٠,٠٩ جم EDTA في ٢٥٠ مل Tris-HCl buffer pH 7.4

- Colouring reagent :

ويحضر بإذابة ١٠ جم Ammonium molybdate + ١٠٠ مل H_2SO_4 (10 N)

- Ferrus sulphate-ammonium molybdate reagent :

ويحضر فورياً (أي قبل الإختبار مباشرة) حيث يؤخذ ١٠ مل من (Colouring reagent) في دورق حجمي ١٠٠ مل ويضاف ٨٠ مل ماء مقطر + ٥ جم $FeSO_4.\,{}_7H_2O$ مع الرج الى ذوبان الحبيبات ثم يكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر ليعطى محلول التاوين .

ثانيا : تحضير الإنزيم :

وفيه تم أخذ مخ الفأر بعد القتل بطريقة فصل العنق بعد ١٠ دقائق من المعاملة (في حالة الإختبار داخل الجسم الحي) لجميع الجرعات ثم يؤخذ المخ بسرعة في منظم الحموضة، وكذلك القواقع تم قتلها بالتجميد بعد ١٥ دقيقة من المعاملة وأخذ جسم القوقع كاملاً ، ثم أخذ ١ جم/١٠ مل (مخ الفار_جسم القوقع كامل) في منظم حموضة T.S.E وطحن جيدا بجهاز الطرد الآلى ، ثم باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة ١٠٠٠٠لفة في الدقيقة / ١٠ دقائق ثم أخذ الرائق supernatant وأعيد طرده على سرعة ١٥٠٠٠ لفة في الدقيقة/ ٣٠ دقيقة ، وأخذ الراسب pellets وإخضاعه لعملية إستحلاب في ١ مل من منظم حموضة T.S.E ليكون جاهزاً للإختبار.

طريقة التقدير:

تم إختبار نشاط الإنزيم تبعا لطريقة Koch (1969) داخل الجسم الحي in vivo وخارج الجسم الحيin vitro كالتالى:

- يضاف ٥٠٠ ميكروليتر من محلولRx .
- يضاف ٣٠٠ ميكروليتر منظم حموضة T.S.E
- يضاف ٥٠ ميكروليتر من الإنزيم (مستحاب الإنزيم لمخ الفئران_جسم القواقع).
- في حالة الإختبار خارج الجسم الحي تم اضافة التراكيز:

مركب Ouabin ١x١٠^{-٣} ، ٦x١٠^{-٤} ، ٤x ١٠^{-٤}، ٢x ١٠^{-٤} مولار./إيثانول

مجزء F_{112} ١,٢x ١٠^{-٣} ، ٤x ١٠^{-٤} ، ٢x ١٠^{-٤} مولار./إيثانول

كما تم إستخدام مذيب الإيثانول كمقارنة.

ويحضن على درجة حرارة الغرفة لمدة ٢٥ دقيقة.

وفي حالة الإختبار داخل الجسم الحي تم اضافة الجرعات:

١٠-١٥-٢٥ مجم/كجم /إيثانول مع الكونترول

- إضافة مادة التفاعل ATP ٥٠ ميكروليتر.(85 mM)
- حضن الناتج على درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٤٥ دقيقة.
- تم ايقاف التفاعل باضافة ٢٥٠ ميكروليترمن مادة

Trichloroaceic acid (TCA 50%)

- إضافة ٣,٨٥ مل من محلول Colouring reagent
- تم قياس اللون الأزرق على طول موجي ٧٤٠ نانوميترمقارنة بعينة المقارنة.

٤- النتائج والمناقشات :

٤-١ إستخلاص الزيوت الأساسية من نباتي العرعر والجنجات *J.procera, L.dentata*

تم إستخلاص الزيوت_ كما ذكر آنفاً_ بطريقة التقطير التجزيئي وكان الناتج لنبات العرعر *J.procera* ٢,٤٥ جم (١,٢٪ وزن/وزن) ، بينما كان الناتج من نبات الجنجات *L.dentata* ٠,٧ جم (١,٤ ٪ وزن/وزن).

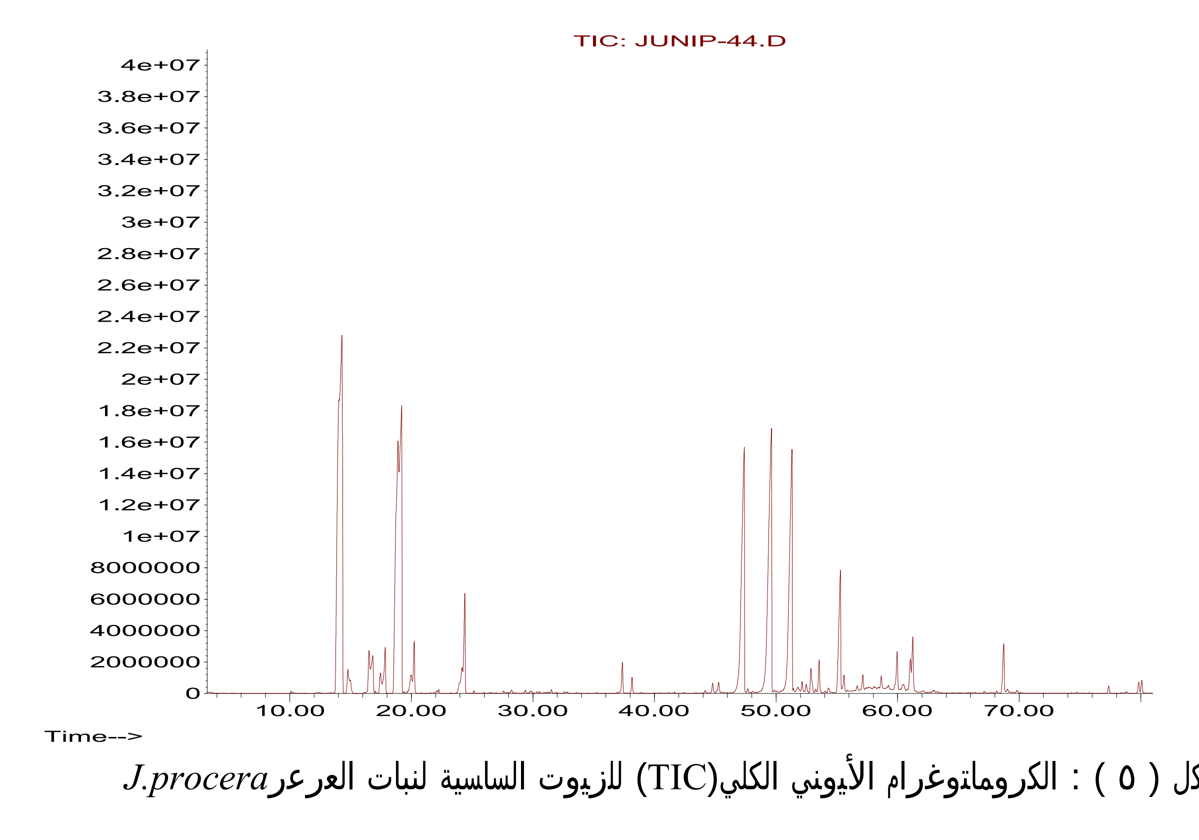
- **الكشف عن المركبات الكيميائية في المستخلص الخام للزيت لنباتي *J.procera, L.dentata*:**

تم إستخدام طريقة كروماتوغرافي الغاز/مطياف الكتلة لتعريف المركبات بالظروف المذكورة آنفاً حيث وجد مايلي :

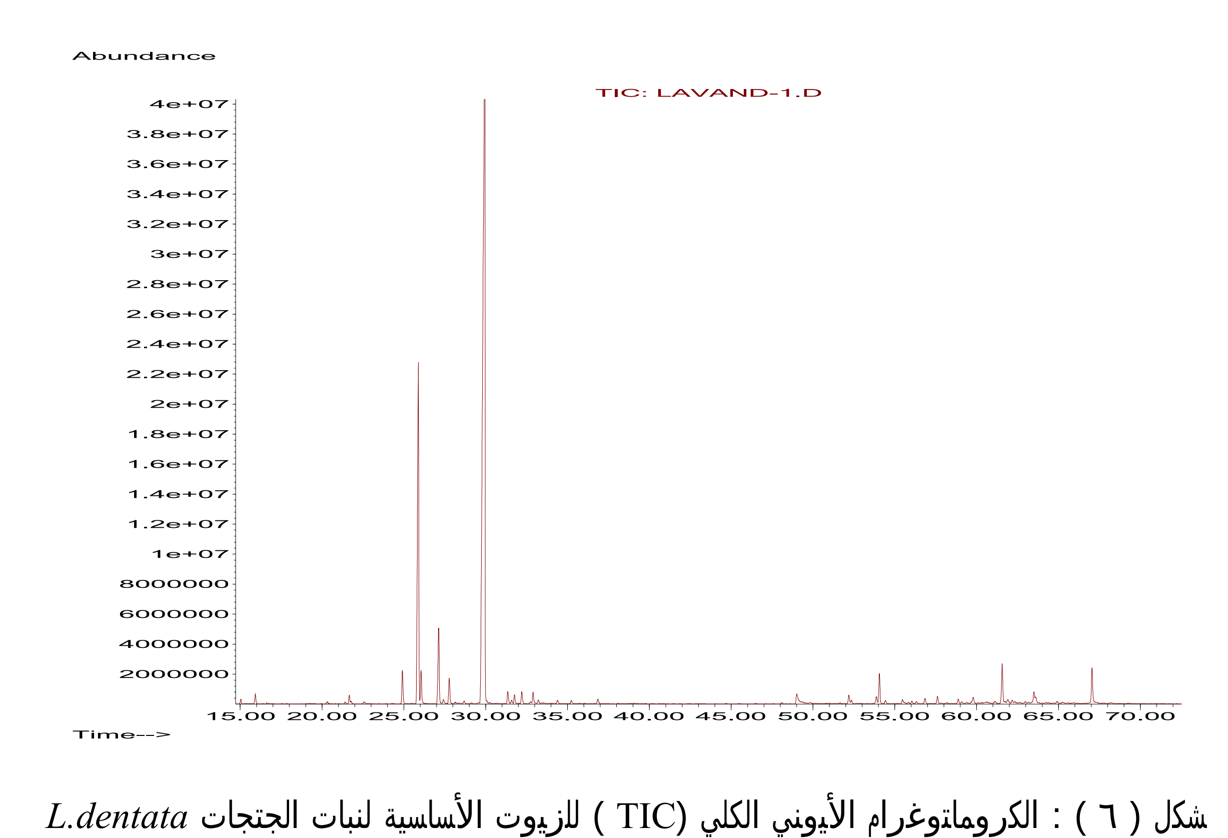
١. في نبات العرعر *J.procera* تم تعريف ٢٧ مركب في المستخلص الخام للزيت بنسبة ٩٣,٩٩٪ ووجد أنه يحوي مجموعتى (monoterpenoids 52.59%, sesquterpenoids 40.86%) ويوضح الشكل (٥) الكروماتوغرام اليوني الكلي للزيت وكانت المركبات الرئيسة كالتالى: (α-pinene 22.76%, 3-carene 21%, α_Humulene 12.41%, α-caryophyllene 10.22%, Germacrene-D 9.73%) وبالمقارنة مع الدراسات السابقة نجد أن عدد المركبات التى تم تعريفها أقل مما ذكر (Adams (1990 في دراسته حيث وجد ٤٠ مركباً بنسب بسيطة وهذا يختلف مع الدراسة الحالية وقد يعود هذا الإختلاف الى موعد جمع النبات بالإضافة الى طبيعة التربة وهذا ملاحظ في دراسة (Adams(1990 حيث يوجد إختلاف في نسب وعدد المركبات بين المناطق موضع الدراسة، هذا بالإضافة الى وقت التقطير حيث أجرى (Adams (1990 عملية التقطير في ٢-٢٤ ساعة، أيضا إزاحة الإيثر من الزيت بإستخدام النتروجين في الدراسة السابقة وهذا يقلل فرصة الفقد في عدد وكمية المركبات في الزيت بعكس طريقة التبخير تحت ضغط حيث أن هذه المركبات تتطاير في درجات الحرارة والضغط العادي ، وكانت المركبات الرئيسة في دراسة (Adams(1990 مركبان فقط وهما α-pinene, 3-carene وهذا يتوافق مع الدراسة الحالية. والجدول (٦) يوضح المركبات في المستخلص الخام لزيت نبات العرعر.

٢. وفي نبات الجنجات *L.dentata* تم تعريف ٢٦ مركب في المستخلص الخام للزيت بنسبة ٧٤,٠٣٪ حيث تنقسم هذه النسبة الى (monoterpenoids 68.97%, sesquterpenoids 3.96%) ويوضح الشكل (٦) الكروماتوغرام الأيوني الكلي للزيت، وكانت المركبات الرئيسة هى (

camphor 45.78%, α-fenchone 13.46%) ، كما وجد إختلاف كبير في محتوى النبات من المركبات بين الدراسة الحالية والدراسات السابقة وهذا الإختلاف قد يعزى أيضاً الى وقت جمع النبات في السنة حيث يتفق هنا مع ماذكره Figuiredo *et al* (1995) من أن محتوى النبات من المركبات وتركيزها هذه يعتمد على الفصل من السنة . ومن ناحية أخرى ، فقد أوضح Games *et al* (1990) أن eucalyptolو β-pinene هما المركبان الرئيسان في المستخلص الزيتي للنبات وهي غير موجودة في الدراسة الحالية. والجدول(٧) يوضح المركبات في المستخلص الخام لزيت نبات الجتجات.



شكل (٥) : الكروماتوغرام الأيوني الكلي(TIC) للزيوت الساسية لنبات العرعر*J.procera*



شكل (٦) : الكروماتوغرام الأيوني الكلي (TIC) للزيوت الأساسية لنبات الجتجات *L.dentata*

جدول (٦): نتائج تحليل الزيوت الأساسية لنبات العرعر *J.procera* بإستخدام جهاز GC/MS

Compound	RT	% In Oil	M.F	Fragmentation
α-pinene	14.29	22.76	$C_{10}H_{16}$	136 (10.8), 121(14.6), 105(11.8), 93(100), 77(28.7), 67(7.5), 53(6.5)
α-fenchene	14.78	0.89	$C_{10}H_{16}$	136(21.5), 121(56.2), 107(30.4), 93(100), 79(59.3), 67(17.4), 53(12)
β-pinene	16.52	0.96	$C_{10}H_{16}$	136(10), 121(13), 107(5), 93(100), 79(23), 69(28.7), 53(7.6)
1- β-pinene	16.82	1.22	$C_{10}H_{16}$	136(10), 121(13.1), 107(5), 93(100), 79(22.3), 69(29.8), 53(7.7)
β-myrcene	17.85	1.63	$C_{10}H_{16}$	136(4), 121(5.2), 107(3), 93(100), 79(15.8), 69(69.8), 53(10.7)
3-carene	19.21	21	$C_{10}H_{16}$	136(22.4), 121(24.2), 105(15), 93(100), 77(32), 67(7.5), 53(6.7)
β-phallandrene	20.24	1.23	$C_{10}H_{16}$	136(20.3), 121(12.7), 107(12.5), 93(100), 79(28), 68(38), 53(11.4)
γ-Terpinene	22.25	T^5	$C_{10}H_{16}$	136(32.6), 121(25.7), 105(10.7), 93(100), 77(31.4), 65(6.8), 51(4.8)
α-Terpinoline	24.17	2.84	$C_{10}H_{16}$	136(90.2), 121(100), 105(25.1), 93(93.5), 79(36.4), 67(9.6), 53(10)
β-bourbonene	44.78	T	$C_{15}H_{24}$	204(2), 161(41.6), 123(78.7), 105(16.7), 91(18), 81(100),

				53(8)
β-elemene	45.28	T	$C_{15}H_{24}$	204(3), 161(39.5), 121(48.2), 107(65.8), 93(100), 81(94.2), 55(32)
caryophyllene	47.38	10.22	$C_{15}H_{24}$	204(9.7), 161(41), 133(100), 120(47), 105(58.7), 93(99.7), 81(36.4), 55(27.4)
β-cubebene	47.68	T	$C_{15}H_{24}$	204(10.3), 161(100), 119(21.8), 105(37), 91(30.5), 81(18.5), 55(10.7)
α-humulene	49.62	12.41	$C_{15}H_{24}$	204(8.7), 161(4.1), 121(31.6), 107(16.3), 93(100), 80(31.8), 53(8.2)
Germacrene-D	51.31	9.73	$C_{15}H_{24}$	204(17.7), 161(100), 119(31.6), 105(49), 91(41.2), 81(27.4), 55(10.8)
α-muurolene	52.15	T	$C_{15}H_{24}$	204(39.4), 161(57.5), 119(26), 105(100) , 93(36.6), 81(23), 55(11.5)
Germacrene-A	52.49	T	$C_{15}H_{24}$	204(33), 161(74), 119(66), 105(76), 93(100), 81(72), 53(40.8)
Delta-cadinene	53.55	0.6	$C_{15}H_{24}$	204(57.7), 161(100), 119(56), 105(45.8), 91(30), 81(18), 55(8.8)
Elemol	55.29	3.42	$C_{15}H_{26}O$	204[M-18](11), 161(79), 121(48), 107(60.7), 93(96), 81(47), 59(100)
Caryophyllene oxide	57.14	T	$C_{15}H_{24}O$	220(0.9), 204(72), 189(100), 161(78), 119(15.7), 105(30), 91(32), 81(23), 59(33)
γ-eudesmol	59.96	0.84	$C_{15}H_{26}O$	222(8), 204(72), 189(100),

				161(78), 105(30), 91(32), 81(23), 59(33)
tau-cadinol	60.43	T	$C_{15}H_{26}O$	222(2), 204(47.7), 161(100), 121(43), 105(34), 95(54), 81(31), 59(21)
β-eudesmol	61.04	0.77	$C_{15}H_{26}O$	222(3), 204(7), 164(39.7), 149(77), 122(23), 108(33), 93(26), 79(23). 59(100)
α-eudesmol	61.25	1.15	$C_{15}H_{26}O$	222(10), 204(76), 161(82), 149(100), 121(41), 109(42), 93(73), 81(36), 59(96)

حيث أن:

compound أسم المركب

RT زمن الإحتباس

% in oil نسبة المركب في خام الزيت

M.F الصيغة الجزيئية

الأرقام التى تحتها خط تشير الى الوزن الجزيئي للمركب

T نسبة المركب في خام الزيت أقل من ٠,٥٪

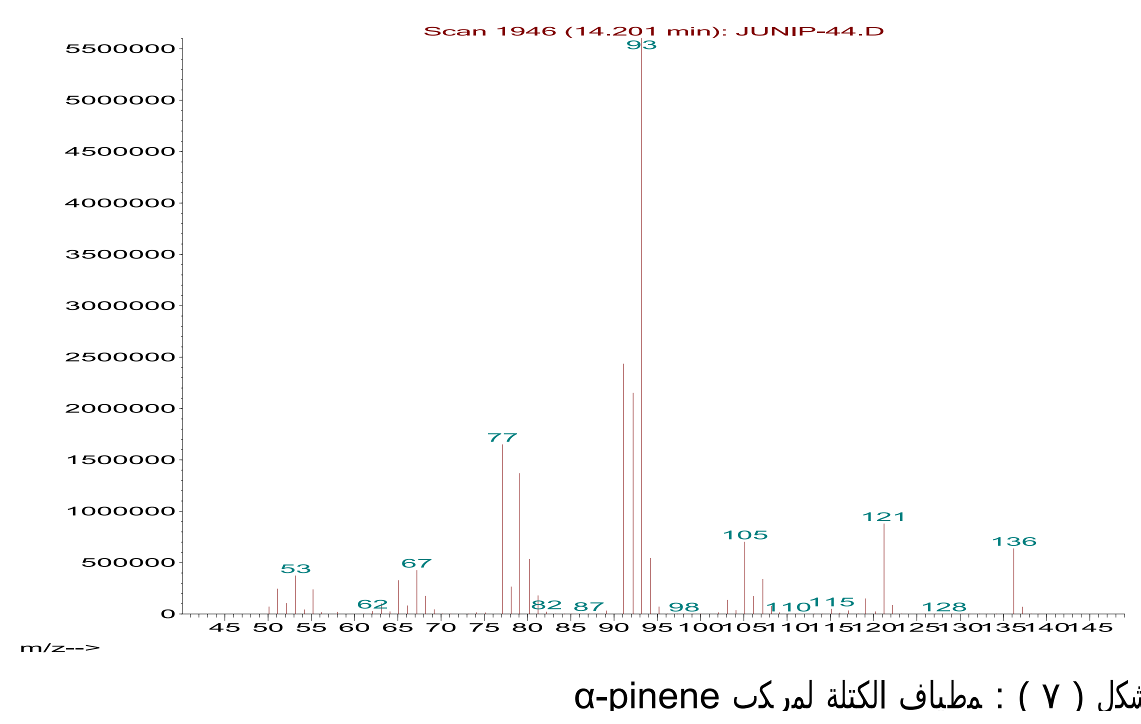
جدول (٧): نتائج تحليل الزيوت الأساسية لنبات *L.dentata* بإستخدام جهاز GC/MS

compound	RT	% in oil	M.F	Fragmentation
α-pinene	15.04	T	$C_{10}H_{16}$	136(7.1), 121(13.4), 105(10.7), 93(100), 77(31.5), 67(8.4), 53(7.8)
Camphene	15.93	T	$C_{10}H_{16}$	136(12.9), 121(9.4), 107(26.9), 93(100), 79(36.8), 67(28.5), 53(13)
limonene	21.67	T	$C_{10}H_{16}$	136(18.5), 121(21.1), 115(1.3), 107(22.4), 93(7.1), 68(100), 79(33.4), 53(6.1).
cis-linalool oxide	24.91	1.17	$C_{10}H_{18}O_2$	155[M-15](4.8), 111(30.2), 94(46.6), 81(19.8), 67(31.6), 59(100), 53(10.18),
α-fenchone	25.88	13.46	$C_{10}H_{16}O$	152(14.3), 109(6), 117(0.02), 137(1.9), 81(100), 69(49.1), 53(6.1)
trans-linalool oxide	26.06	1.18	$C_{10}H_{18}O_2$	155[M-15](6.8), 111(26), 119(1.5), 94(47.7), 81(20.2), 68(31)
Linalool	27.13	2.88	$C_{10}H_{18}O$	154(0.3), 93(81.8), 71(100), 121(20.9), 107(7.3), 136(6), 80(33.2), 55(58.8)
trienol	27.43	T	$C_{10}H_{16}O$	152(0.46), 109(26.6), 91(11.45), 82(60.3), 77(12.1), 71(100), 65(6.6)
Fenchol	27.78	0.98	$C_{10}H_{18}O$	154(1.2), 136(1.8), 121(12.8), 111(14.1) , 93(17), 81(100), 69(22.8), 55(48.8)
α-Campholenal	28.68	T	$C_{10}H_{16}O$	152(0.67), 108(100), 93(75.5), 81(15.3) ,67(28.8), 55(16.25).

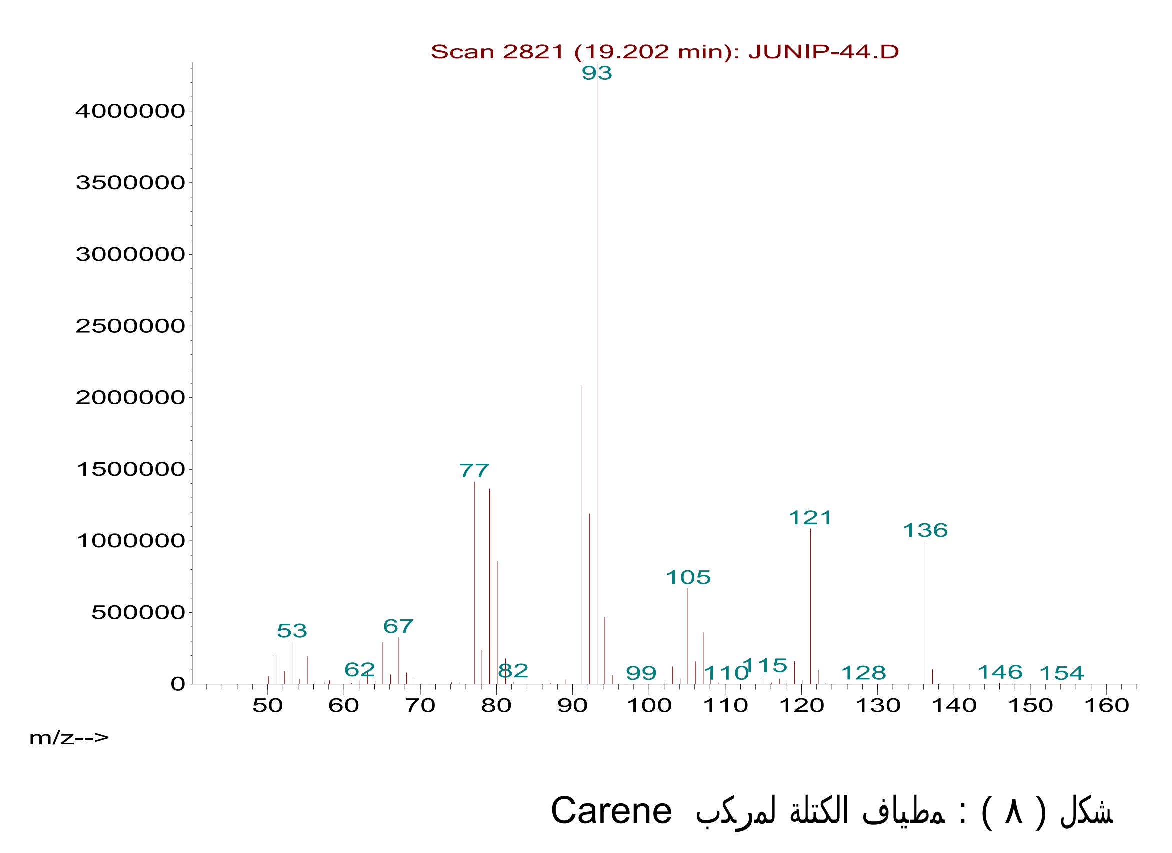
Camphor	29.93	45.78	$C_{10}H_{16}O$	152(29), 108(38.5), 95(100), 81(71.6), 69(37), 55(33.8)
Borneol	31.35	T	$C_{10}H_{18}O$	154(0.34), 139(6.23), 121(6.4), 110(20.4), 95(100), 67(9), 55(10.5)
Linalool z-pyranic oxide	31.76	T	$C_{10}H_{18}O_2$	170(0.18), 155(6.7), 125(2.3), 109(4), 94(63.5), 79(22.5), 68(100)
Epoxylinalool	32.21	0.51	$C_{10}H_{18}O_2$	155(4), 119(2), 111(6), 102(3.6), 94(64), 85(6), 68(100), 53(16).
ρ-Cymen-8-ol	32.90	T	$C_{10}H_{14}O$	150(12), 135(100), 117(20.4), 105(6.5) , 91(37.4), 77(8.4), 65(15.5)
α-Terpineol	33.22	T	$C_{10}H_{18}O$	150[M-4](1), 121(54), 115(2), 107(8), 93(71), 81(45), 59(100)
Verbenone	34.39	T	$C_{10}H_{14}O$	150(33.5), 135(66.8), 122(16.4), 107(100), 91(71.9), 79(47), 67(26.5)
Trans- Carveol	35.24	T	$C_{10}H_{16}O$	152(8), 134(10.6), 119(23.6), 109(100), 84(50.3), 77(23.4)
Carvone	36.86	T	$C_{10}H_{14}O$	150(6.8), 135(5.8), 108(35.2), 93(37), 82(100), 67(11.4)
β-Selinene	52.19	T	$C_{15}H_{24}$	204(44.5), 189(46.1), 175(22.3), 161(56.8), 147(46), 133(45.8), 105(100) , 93(93.4), 79(95.7)
Cis- Calamene	54.43	T	$C_{15}H_{22}$	202(13), 159(100), 144(7), 128(13.8), 115(7), 105(5.1), 91(3.2)
Guaiol	56.04	T	$C_{15}H_{26}O$	222(1.17), 204(9.2), 189(23.6), 175(5.4) , 161(56.3), 147(17.5), 135(27.6), 121(52.4), 107(57),

				93(100), 79(58.1), 69(33.1)
β-Eudesmol	61.56	1.60	$C_{15}H_{26}O$	222(1.8), 189(9.8), 164(24.6), 149(56.7), 135(12.7), 121(19), 108(28.5), 93(26), 79(25.6), 67(21.6), 59(100)
Cadinene	61.91	T	$C_{15}H_{26}O$	222(2.2), 204(35.8), 161(53.7), 132(38.2), 121(100), 105(64), 95(82.7), 79(47.1), 67(29)
α-Santalol	67.05	1.53	$C_{15}H_{24}O$	220(0.7), 202(31), 159(18), 131(26.8), 121(24), 109(64), 93(100), 84(34), 55(39)



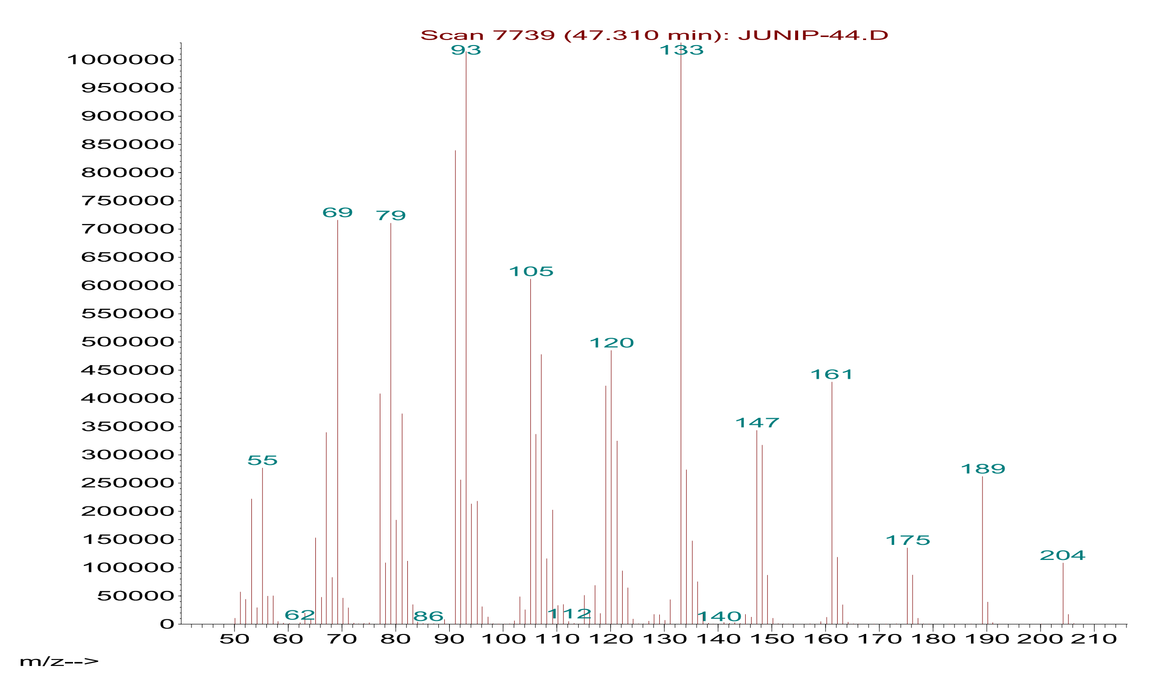


شكل (٧) : مطياف الكتلة لمركب α-pinene



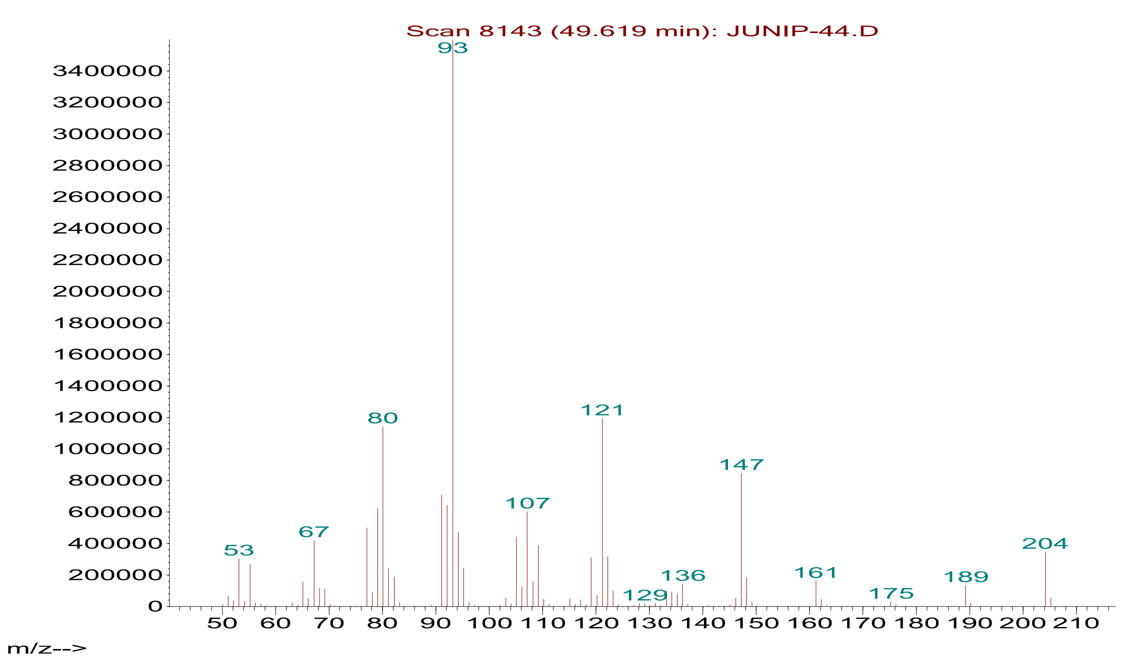
شكل (٨) : مطياف الكتلة لمركب Carene



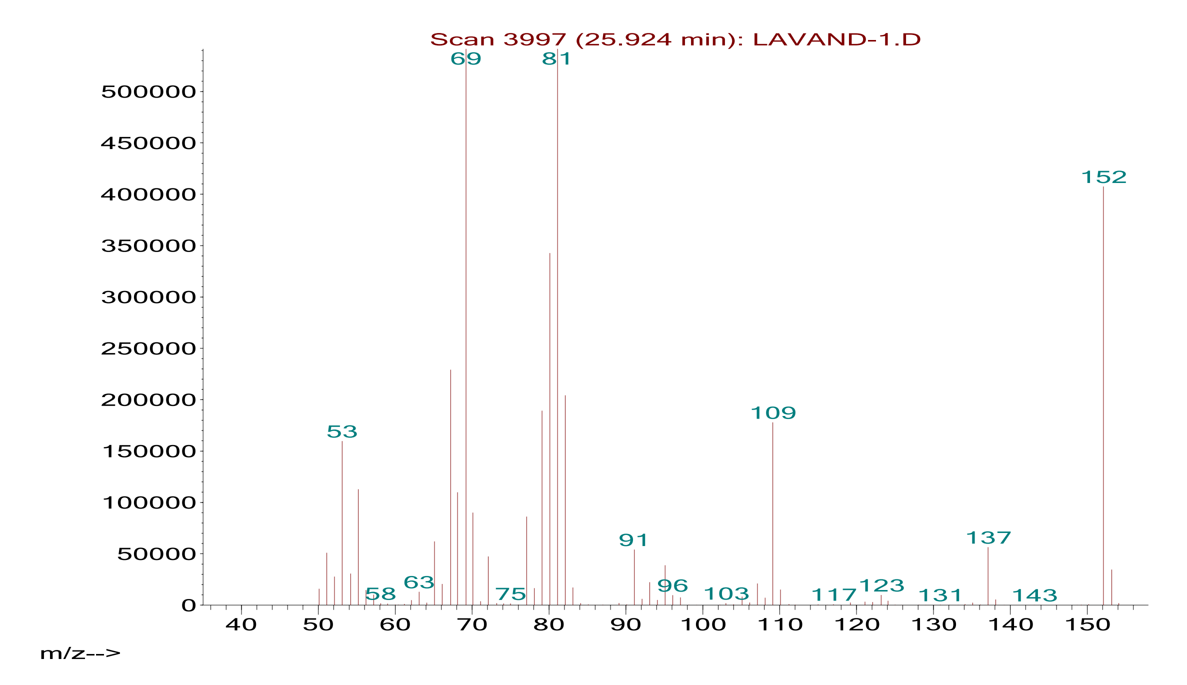


شكل (٩) : مطياف الكتلة لمركب caryophyllene

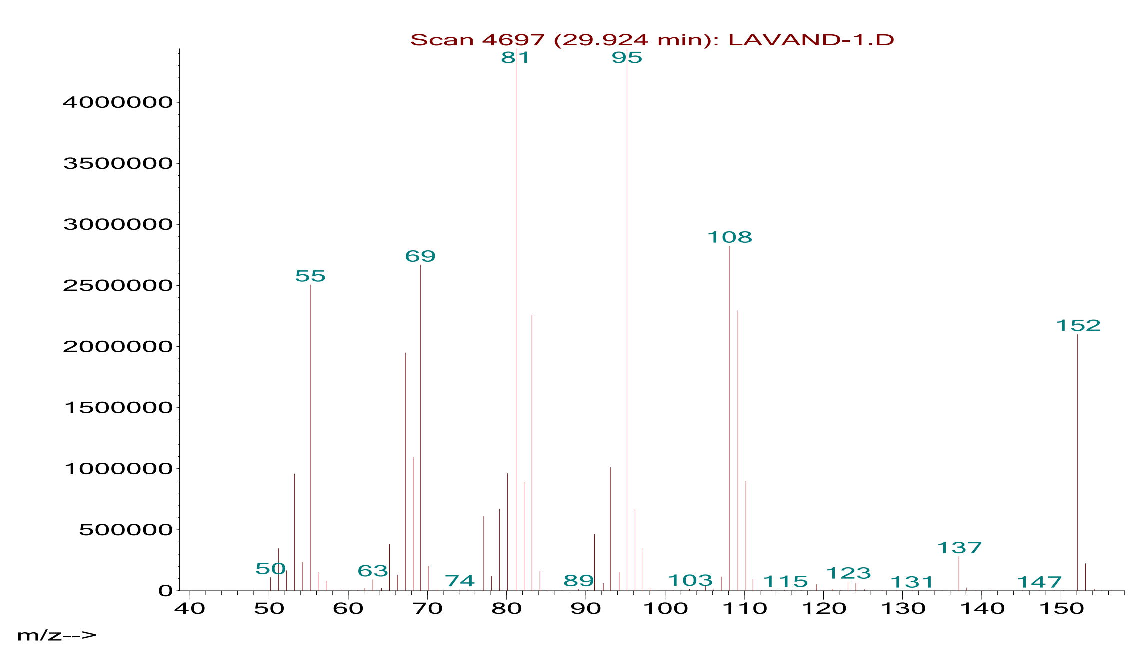
Abundance



شكل (١٠) : مطياف الكتلة لمركب α-humelene



شكل (١١) : مطياف الكتلة لمركب α-fenchone



شكل (١٢) : مطياف الكتلة لمركب Camphor

٤-٢ تجزئة وعزل المركبات الكيميائية للمستخلص الزيتي الخام لنبات العرعر *J.procera* :

على ضوء الفعالية البيولوجية لمستخلص الزيت على يرقات البعوض تم تجزىء المستخلص بإستخدام طريقة العمود الكروماتوغرافي منخفض الضغط (LPLC) ونظام إزاحة متدرج (gradient elution) -كما ذكر آنفاً- وذلك للوصول الى مجزءات تحوي أقل عدد في المركبات وأعلى فعالية .

ثم أتبعت طريقة كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة ونظام مذيب A للكشف عن المركبات وتوزيعها في المجزءات وإستخدام كاشف فانيلين/حمض الكبريت ثم التسخين على درجة حرارة ١٠٠ درجة مئوية لمدة ٥ دقائق.

بعد ذلك تم ملاحظة التشابه في وجود المركبات في كل مجزء للمجزءات الـ ٣٦ وبالتالى في قيمة RF والناتج النهائي للتجزىء كان كالتالى:

Fraction 210 = 0.21 g
Eluted wih Pet.ether 100%, Pet.ether 75%/ ether, Pet.ether 50%/ ether F_1---F_{13}

Fraction 211 = 0.22 g
Eluted with Pet.ether 25%/ ether F_{14}---F_{19}

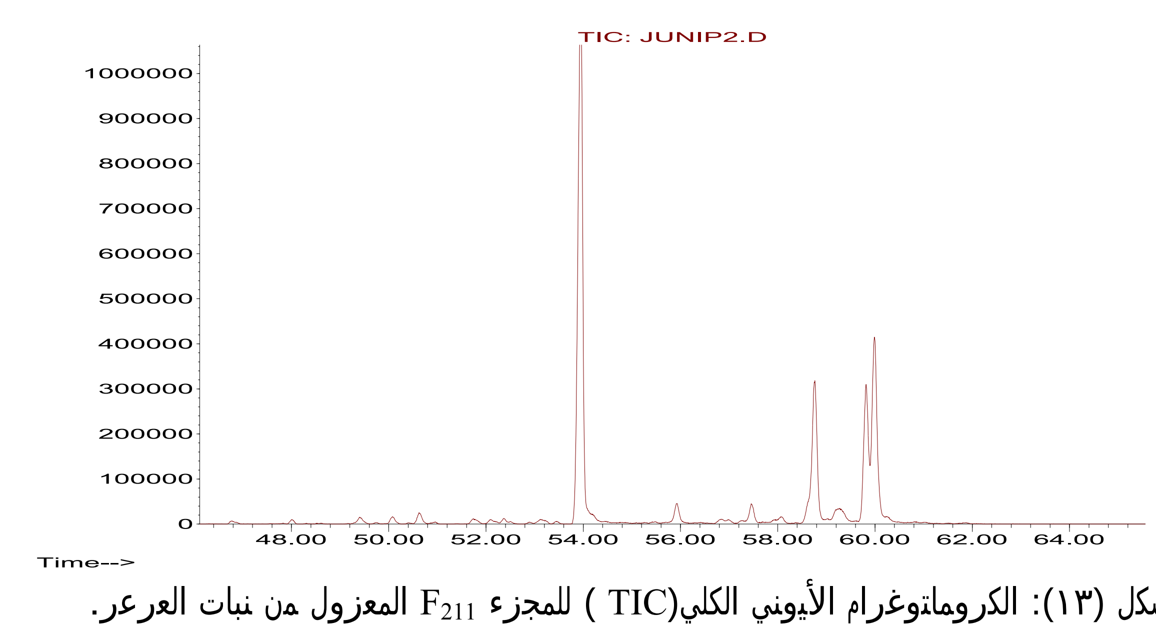
Fraction 212 = 0.34 g
Eluted with Ether 100%, Ether 20%/ acetone F_{20}--- F_{26}

Fraction 213 = 0.29 g
Eluted with Ether 50%/ acetone, acetone 100% F_{27}---F_{33}

Fraction 214 = 0.26 g
Eluted with acetone 95%/ methanol F_{34}---F_{38}

بعد ذلك تم إجراء التقييم الحيوي لكافة المجزءات على يرقات البعوض لتحديد أقوى المجزءات فعالية ، حيث وجد أن المجزء F_{211} أقوى هذه المجزءات في فعاليتها، والذى أزيح بنظام Pet.ether 25%/ ether ، بعد ذلك تم الكشف على المجزء F_{211} بإستخدام جهاز كرماتوغرافي الغاز/مطياف الكتلة تحت نفس الظروف ووجد أنه يحوى أربعة مركبات Sesquiterpenoids يوضحها الجدول ٨ .

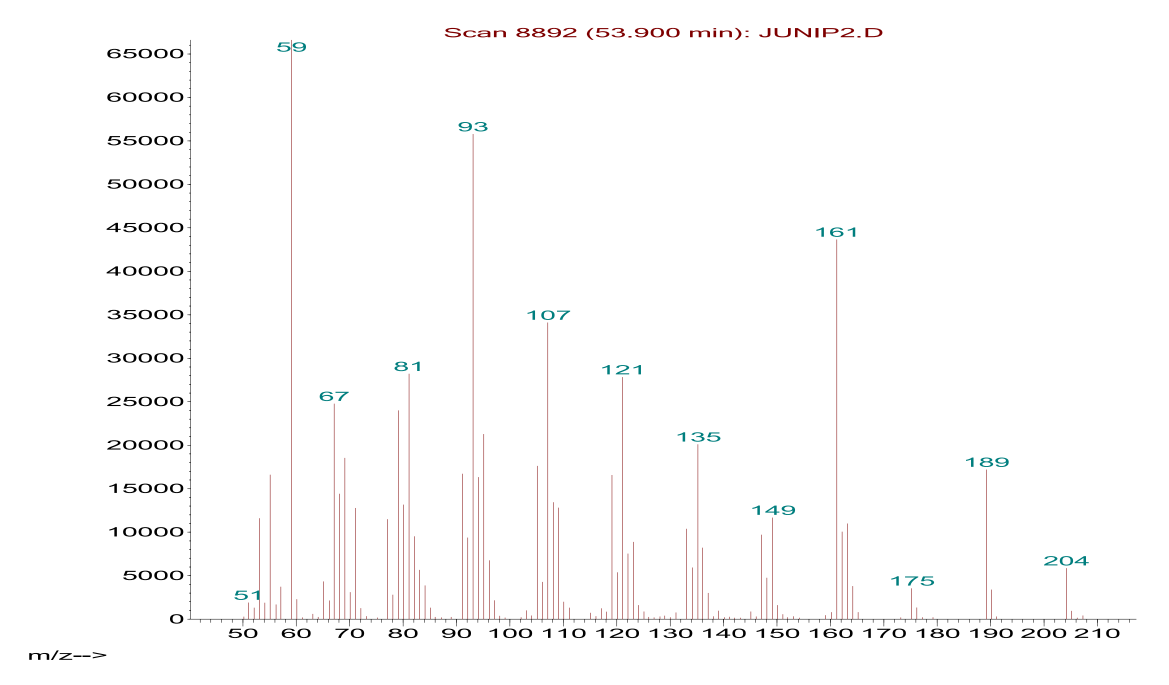




شكل (١٣): الكروماتوغرام الأيوني الكلي(TIC) للمجزء F_{211} المعزول من نبات العرعر.

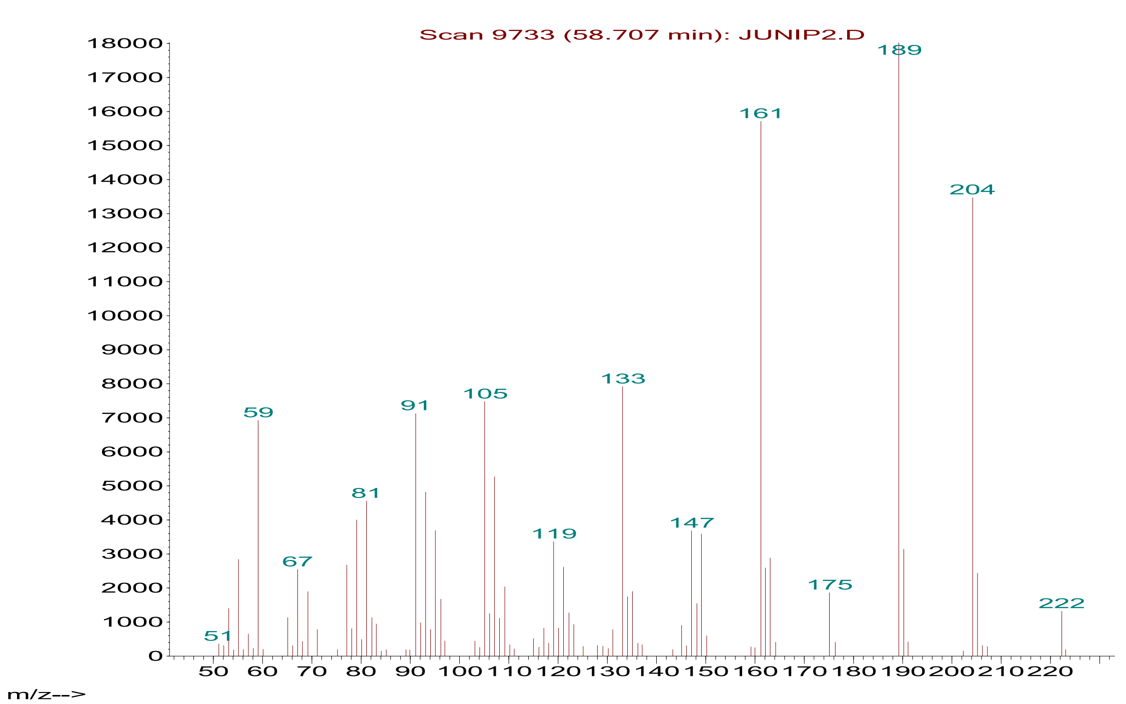
جدول (٨): نتائج تحليل الزيوت الأساسية للمجزء F_{211} بإستخدام جهاز GC/MS

Compound	RT	% / OIL	M.F	Fragmentation
Elemol	53.95	51.60	$C_{15}H_{26}O$	204[M-18](8.8), 189(25.8), 175(5.3), 161(65.5), 149(17.5), 135(30.1), 121(41.7), 107(51.2), 93(83.7), 81(42.3), 67(37.2), 59(100)
γ-Eudesmol	58.76	15.98	$C_{15}H_{26}O$	222(7.3), 204(74.7), 189(100), 175(10.3), 161(87.1), 147(20.4), 133(44), 119(18.6), 105(41.4), 91(39.5), 81(25.2), 69(10.5), 59(38.4).
β-Eudesmol	59.82	13.21	$C_{15}H_{26}O$	222(3), 204(6.4), 189(10.4), 175(1.4), 164(33.6), 149(67.2), 135(13.5), 122(21.8), 109(28.5), 93(23.5), 81(20.8), 69(8.4), 59(100).
α-Eudesmol	59.99	19.21	$C_{15}H_{26}O$	222(8.4), 204(64), 189(62.8), 175(10), 161(68.), 149(89.3), 133(22.8), 121(24), 107(34.6), 93(45.6), 79(27.1), 69(12.2), 59(100)



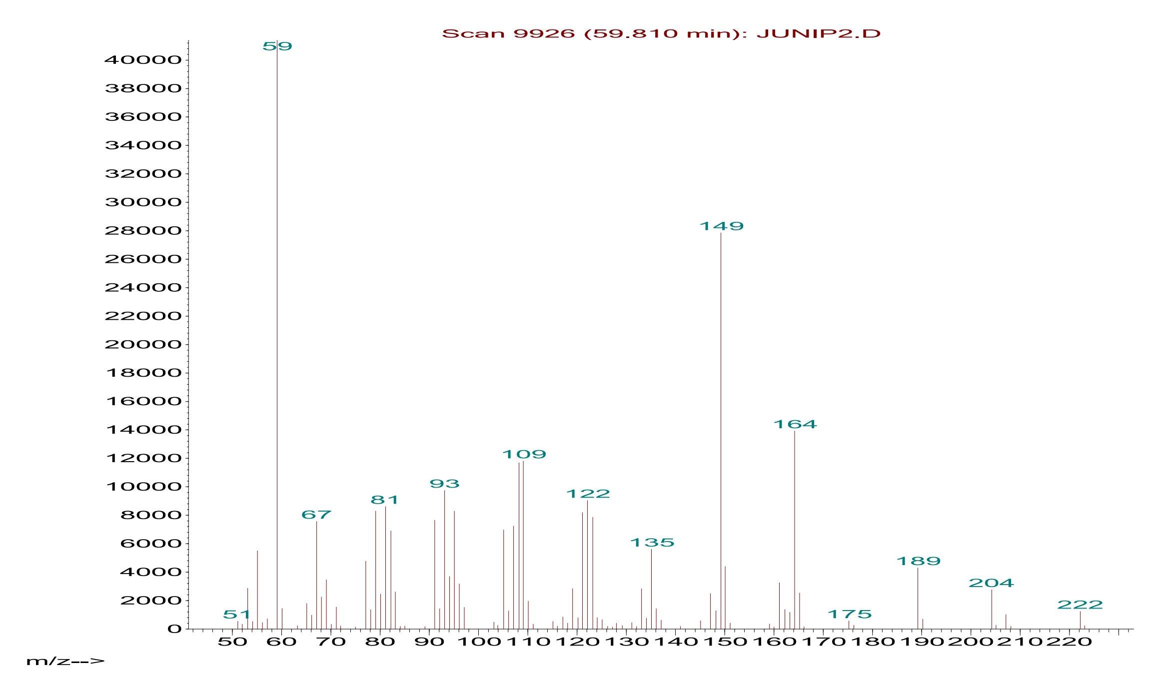
شكل (١٤) : مطياف الكتلة لمركب Elemol



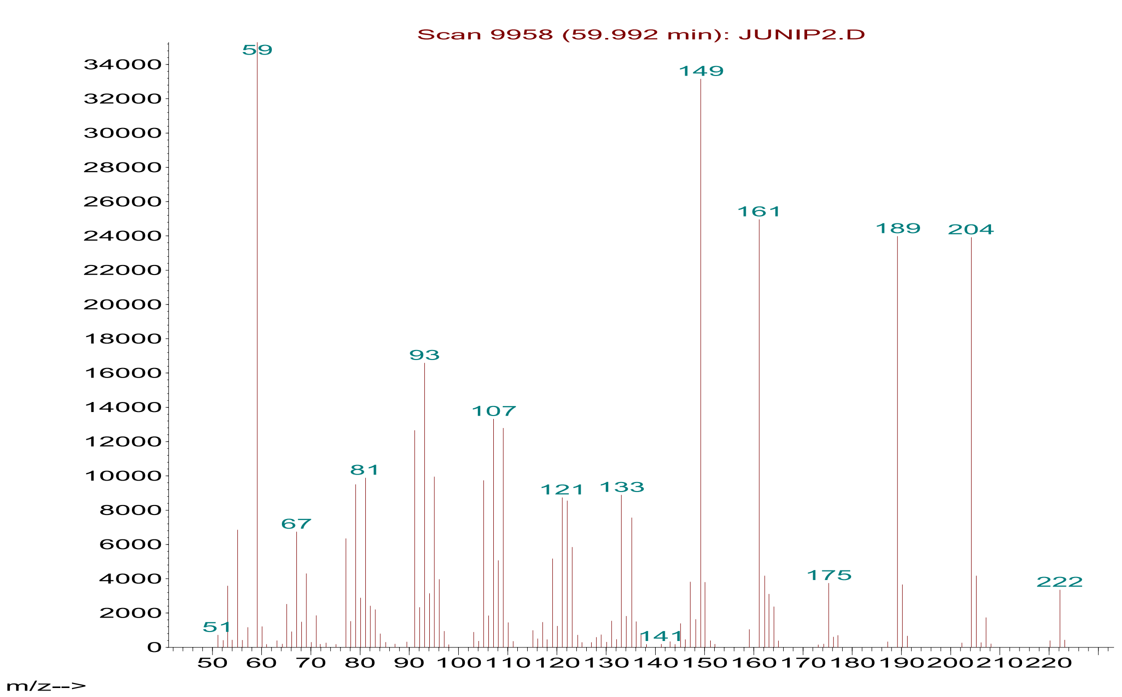


شكل (١٥) : مطياف الكتلة لمركب γ-Eudesmol





شكل (١٦) : مطياف الكتلة لمركب β-Eudesmol



شكل (١٧) : مطياف الكتلة لمركب α-Eudesmol

٤-٣ إستخلاص المركبات الكيميائية من نبات العشار *C.procera*

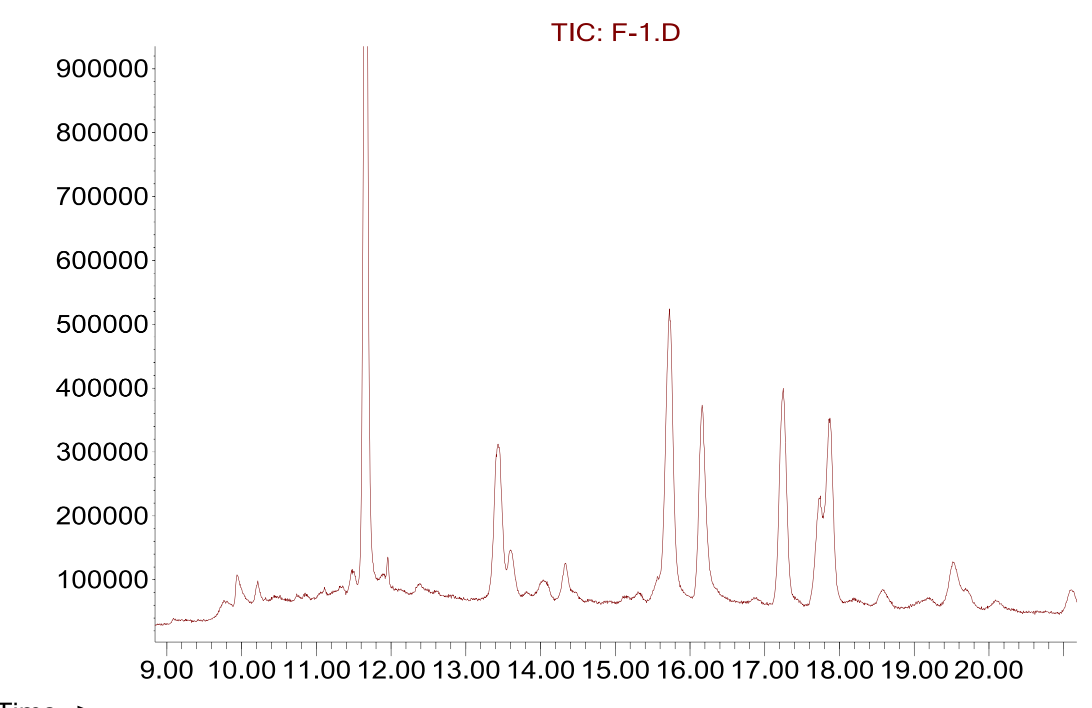
تم الحصول على ناتج من تنقية المادة اللبنية للعينة الأولى بمقدار ٠,٧ جم وللعينة الثانية بمقدار ٦,٥ جم وهى عبارة عن مخلوط من مركبات الكاردينوليد ومركبات أخرى ، هذا بالإضافة الى الناتج من الإستخلاص بإستخدام مذيب Petroleum ether 100% من العينة الأولى والذى أعطى مادة راتنجية (زيتية) بمقدار ٠,٥ جم (F_1) .

- **الكشف عن محتوى المادة الزيتية F_1 والمعزولة من المادة اللبنية للعشار بإستخدام جهاز كروماتوغرافي الغاز /مطياف الكتلة :**

تم إستخدام الجهاز بنفس المواصفات عدا برنامج درجة الحرارة الذى كان كالتالى:

Oven temperature (Initial temp 90 °C/ 3 min)- final temp 280 °C at rate 20 °C/ 4 min-kept constant at 280 °C/ 15 min.

ولقد تم الكشف عن نسب متقاربة من ٩ مركبات تنتمى الى مجموعة من المركبات الكيميائية (sterols,Triterpenes) والجدول (٩) يوضح محتوى المجزء من هذه المركبات .

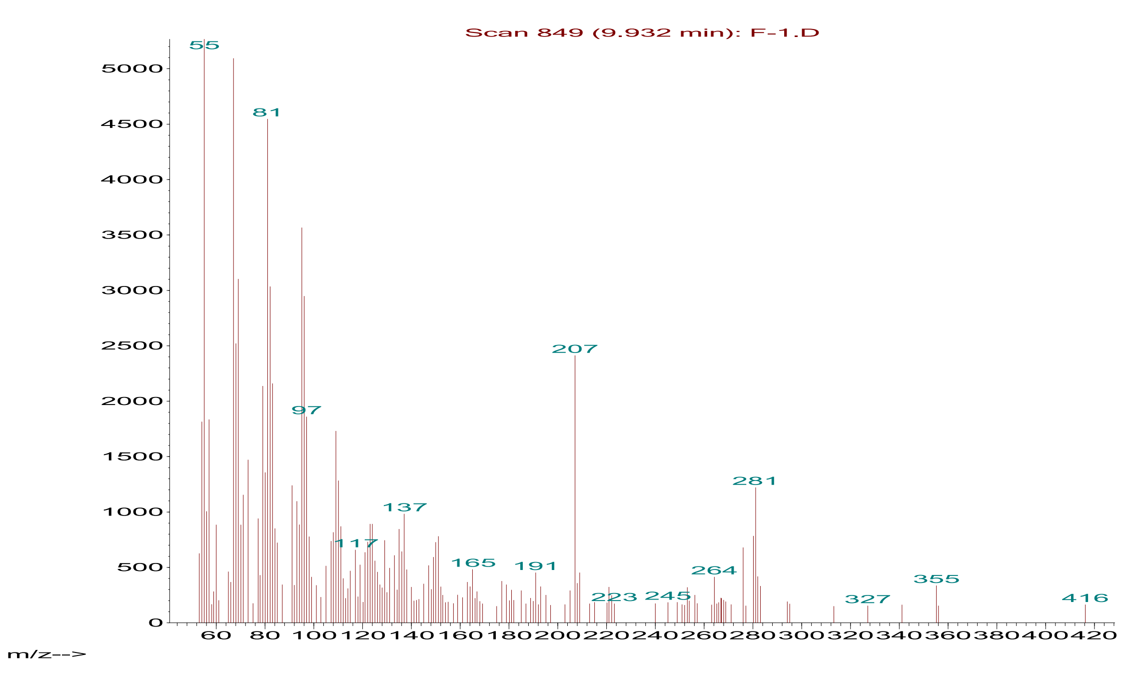


شكل (١٨) : الكروماتوغرام الأيوني الكلي (TIC) للمجزء F_1 المعزول من نبات العشار

جدول (٩) نتائج تحليل المركبات الكيميائية للمجزء F_1 بإستخدام جهاز GC/MS

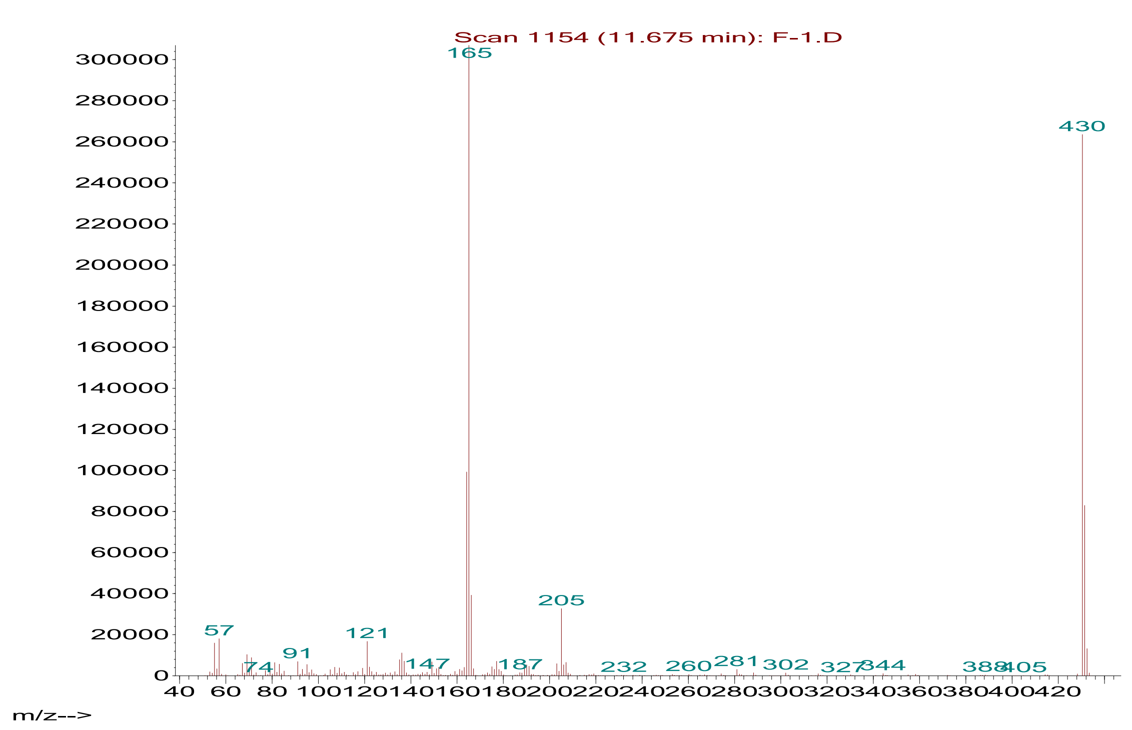
Compound	RT	%/ OIL	M.F	Fragmentation
Linoleic acid	9.95	2.5	$C_{18}H_{32}O_2$	280(15), 281(23), 264(7.8), 207(45.8), 185(5.5), 165(9.1), 137(18.6), 109(32.8), 81(86.3), 55(100)
α-Tocopherol	11.66	29.26	$C_{29}H_{50}O_2$	430(79.1), 388(0.2), 344(0.3), 281(0.9), 253(0.2), 232(0.09), 205(10.4), 187(0.5), 165(100), 147(0.6), 121(5.4), 91(2)
D:C-Friedoolean-8-en-ol	13.44	9.41	$C_{30}H_{48}O$	424(25.4), 405(3.2), 368(5.6), 342(4.5), 313(26.2), 281(31), 245(24.5), 227(4.1), 205(100), 175(23.1), 149(41.6), 121(59.6), 95(79.5), 77(18.3), 55(60.7)
Ergost-5-en-3,β-ol	13.60	2.35	$C_{28}H_{48}O$	400(37.), 382(15.3), 355(8.8), 315(23.4), 281(43.1), 255(16), 231(10.8), 207(100), 189(9), 163(17.4), 145(28.3), 128(6.1), 107(33.2), 81(42.5), 55(48.8)
β-Sitosterol	15.73	17.82	$C_{29}H_{50}O$	414(100), 396(49.6), 354(9.7), 329(62.7), 303(61.7), 273(31.3). 255(39.6), 231(30.3), 213(54.6), 187(18.8), 145(67.3), 119(46.7), 95(69), 77(15.8), 55(73.2)
Stigmasta-5,24(28)-dien-3,β-ol,(E)	16.17	10.64	$C_{29}H_{48}O$	412(5.4), 314(100), 281(15.8), 253(7), 229(30), 207(24.4), 187(6.7), 151(3), 145(21), 121(12), 105(23.8), 81(26.5), 55(50)
Lup-20(29)-en-3-one	17.25	12.02	$C_{30}H_{48}O$	424(27.7), 405(1.3), 368(6.8), 341(4), 313(23), 297(4.2), 281(17), 265(1.7), 245(23), 229(7.5), 205(100), 189(42), 161(28.5), 109(76.6), 81(67), 55(53.3)
Cycloeucalenol	17.74	5.39	$C_{30}H_{50}O$	426(10), 411(16.7), 393(30.7), 365(13.5), 339(8.4), 315(4), 253(9), 231(8), 207(68), 175(38), 157(7), 135(43.5), 117(18.8), 95(76.6), 69(100), 51(1.8)
Lupeol	17.87	10.61	$C_{30}H_{50}O$	426(23.4), 393(4), 355(3.5), 315(11), 298(2.7), 281(21.8), 257(8.6), 229(12.4), 207(100), 189(70.2), 161(32), 135(62.8), 117(10.5), 95(74), 77(16.6), 55(54.4).



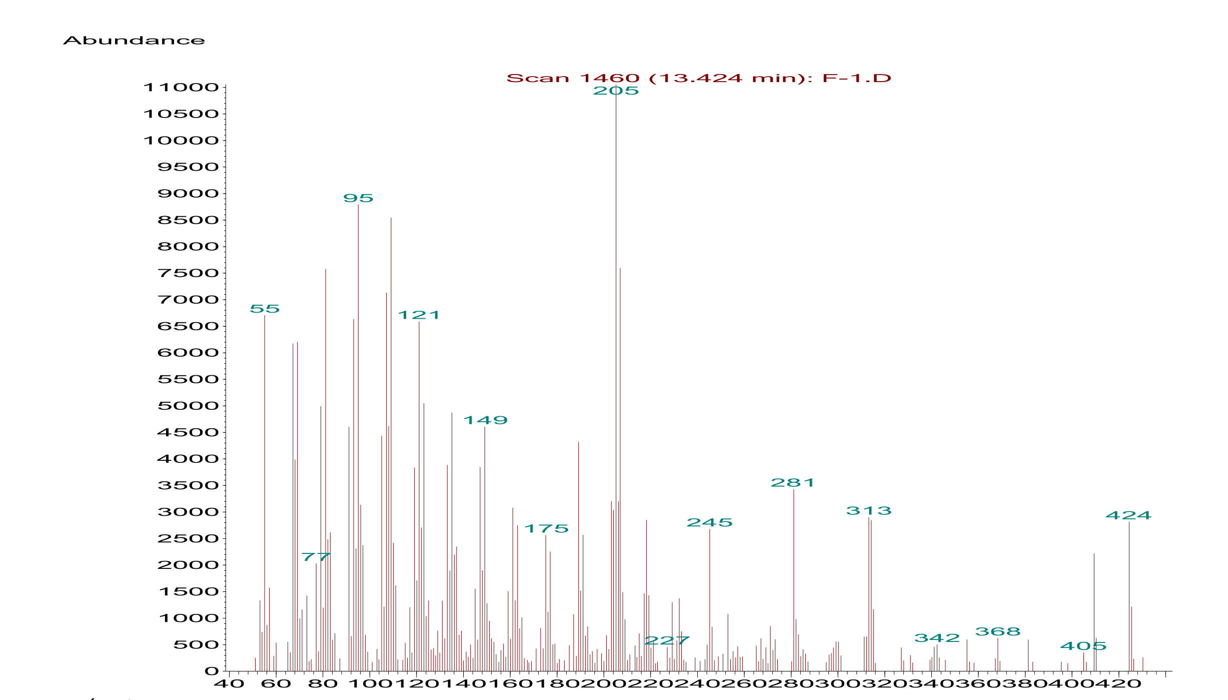


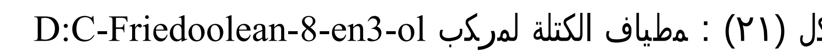
شكل (١٩) : مطياف الكتلة لمركب Lineoleic acid

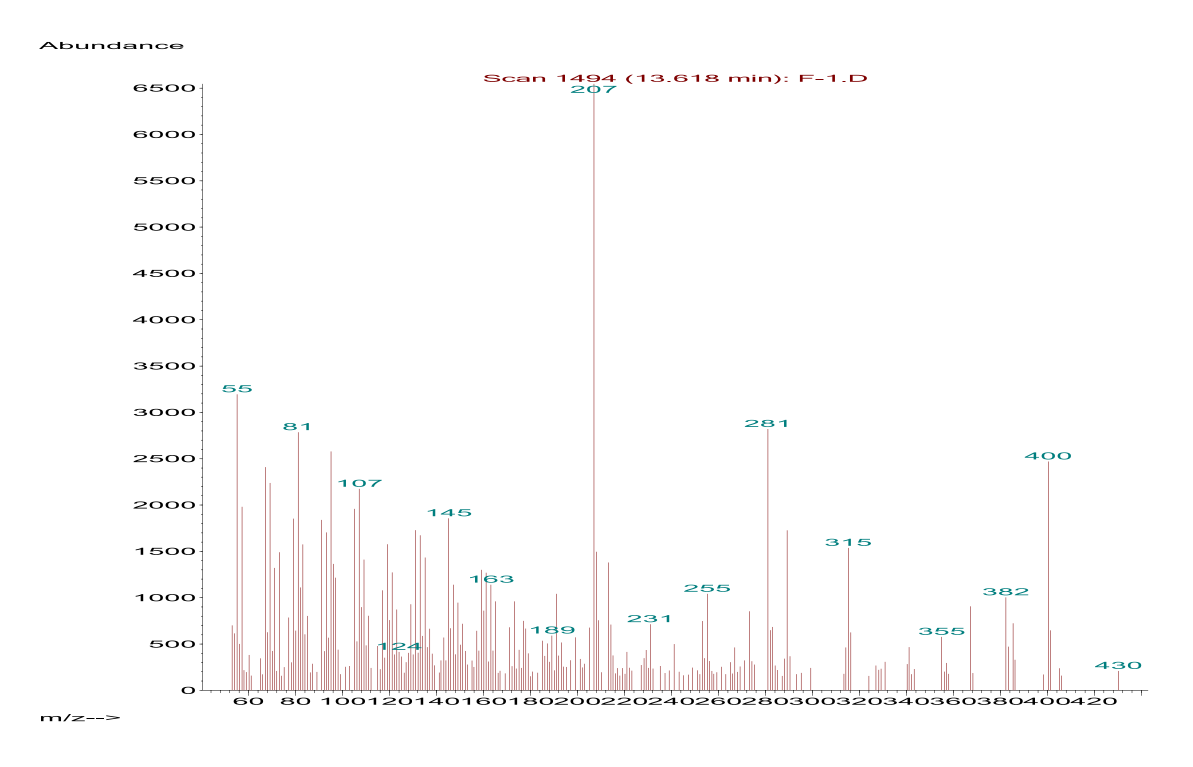
Abundance



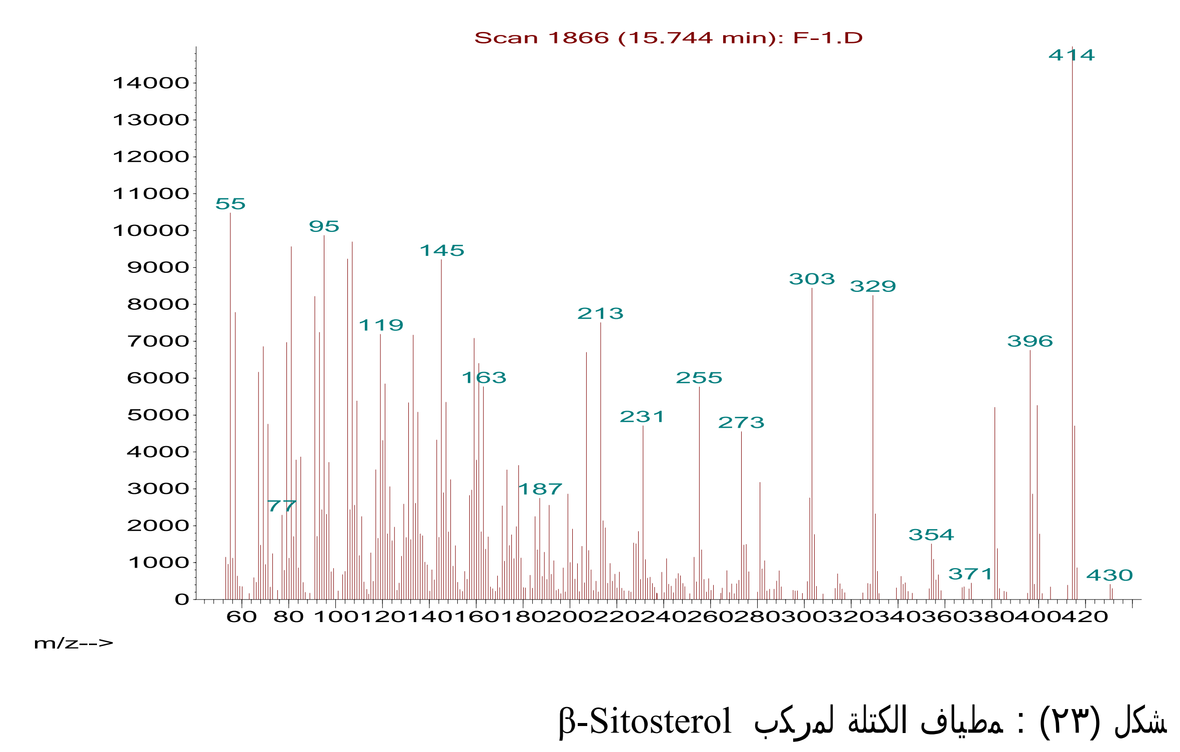
شكل (٢٠) : مطياف الكتلة لمركب α-Tocopherol



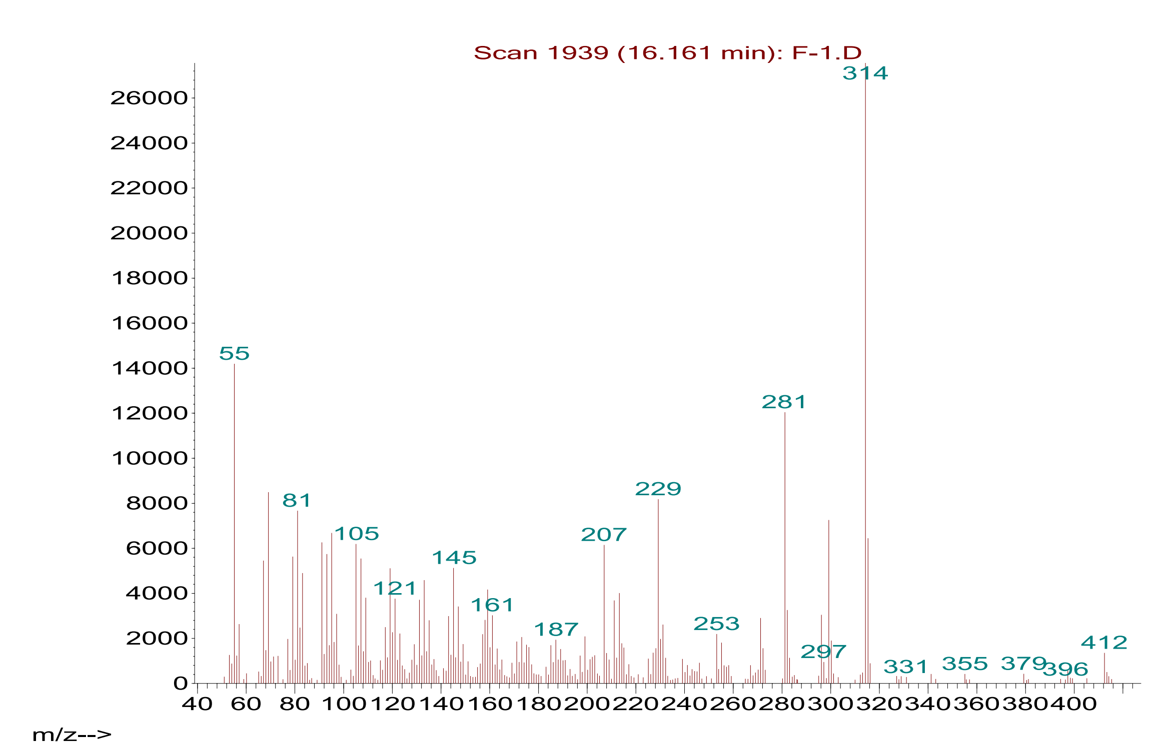

شكل (٢١) : مطياف الكتلة لمركب D:C-Friedoolean-8-en3-ol



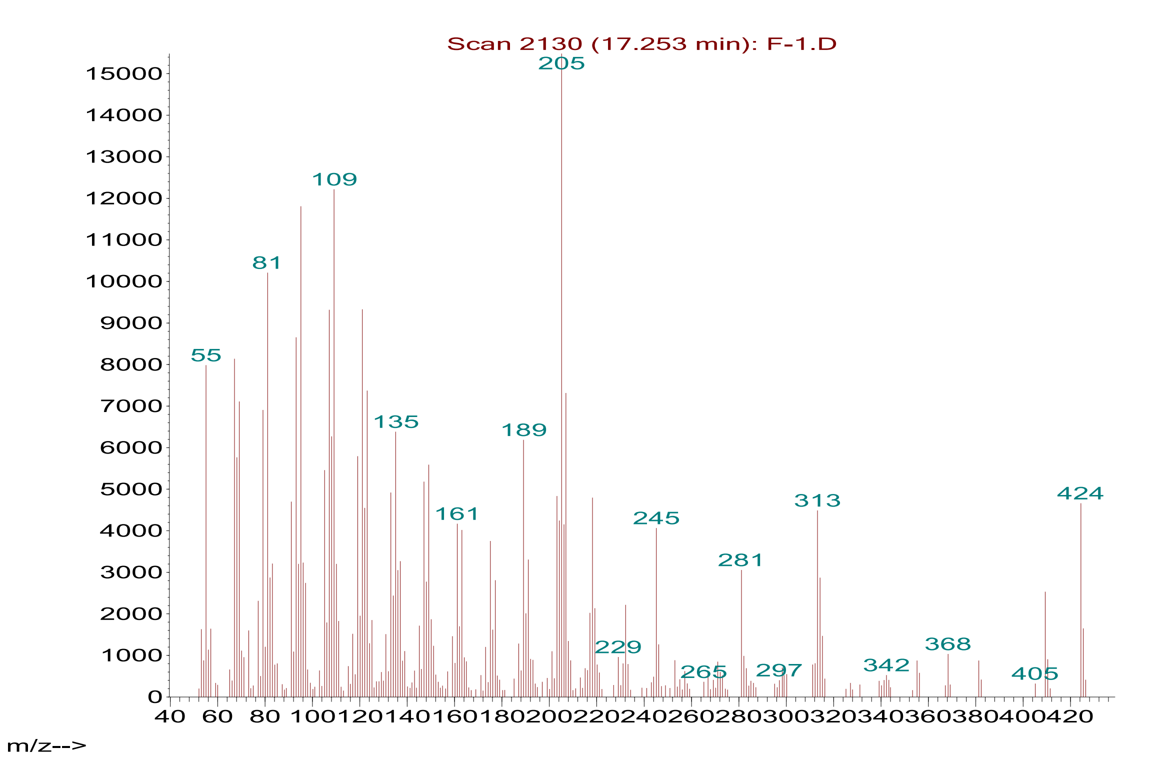
شكل (٢٢) : مطياف الكتلة لمركب Ergost-5-en-3.β-ol



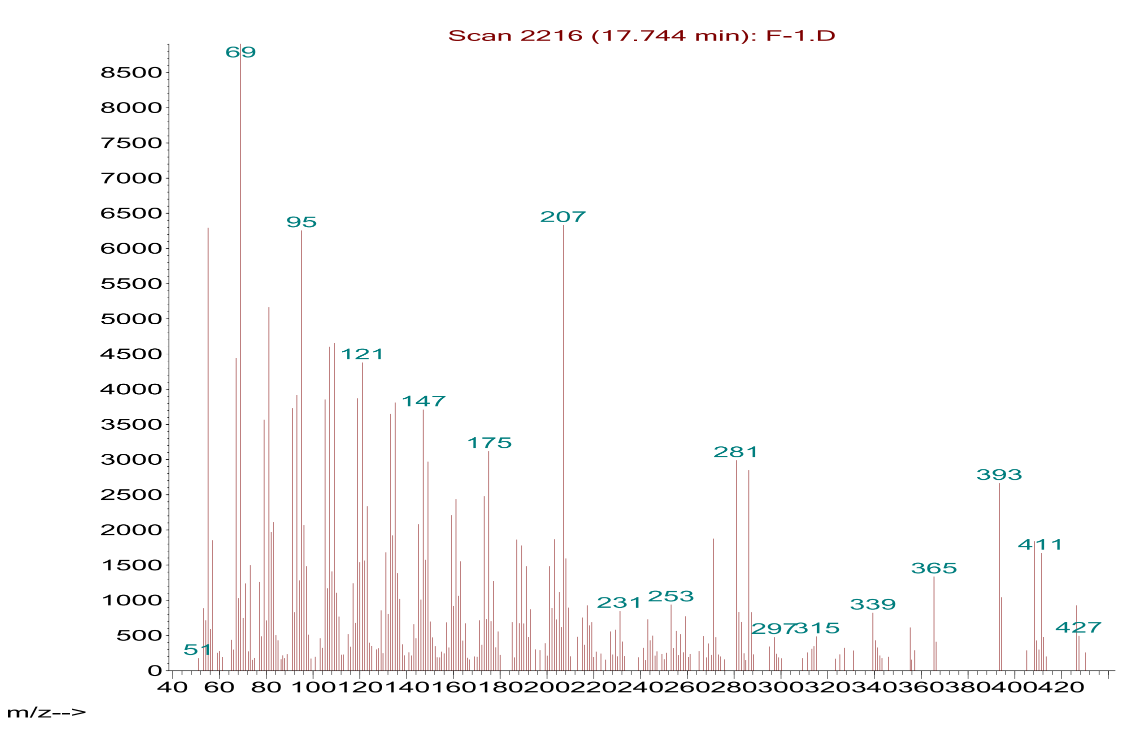
شكل (٢٣) : مطياف الكتلة لمركب β-Sitosterol



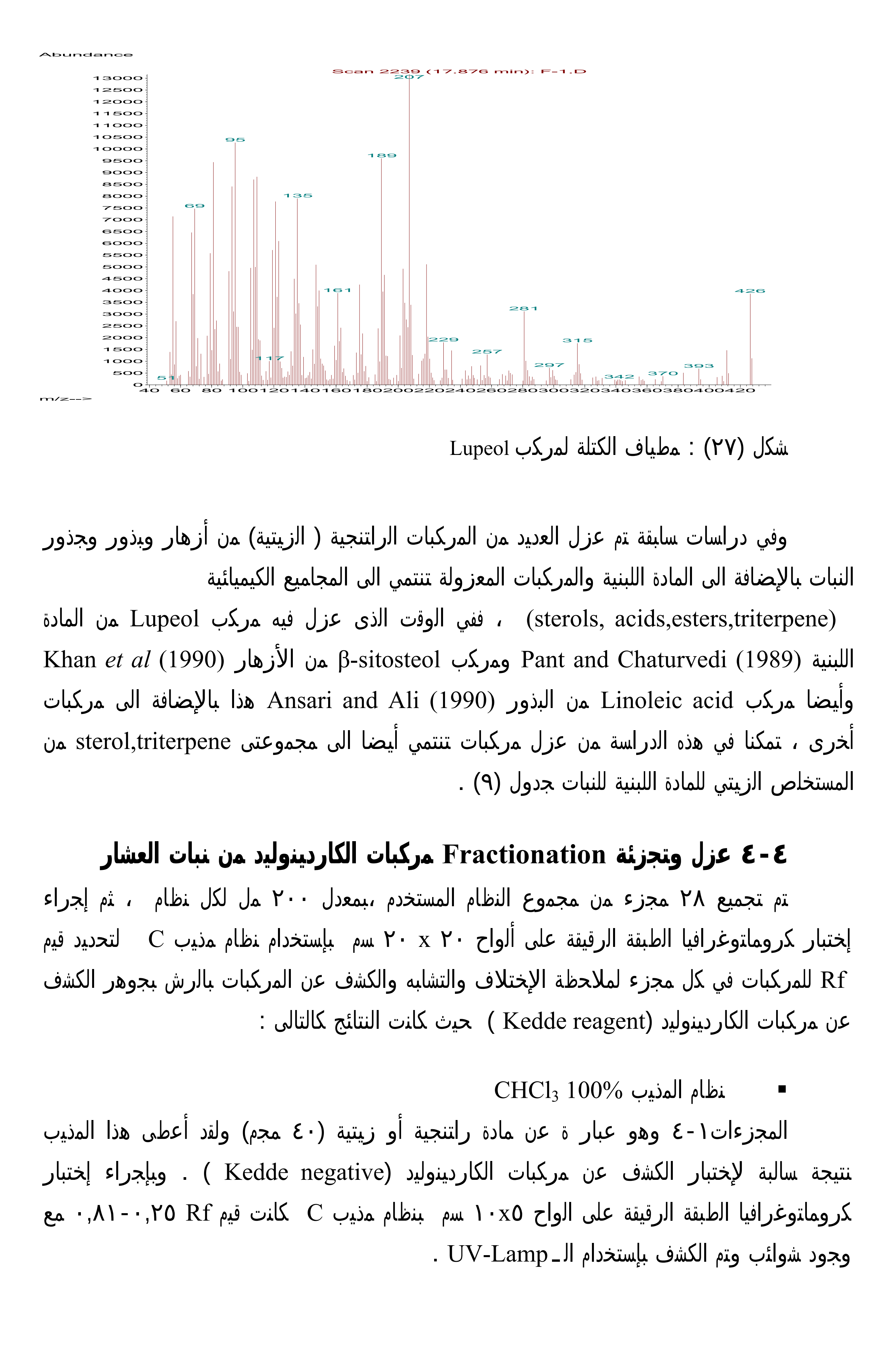
شكل (٢٤) : مطياف الكتل لمركب Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol,β-ol



شكل (٢٥) : مطياف الكتلة لمركب Lup-20(29)-en-3-one



شكل (٢٦) : مطياف الكتلة لمركب Cycloeucalenol



شكل (٢٧) : مطياف الكتلة لمركب Lupeol

وفي دراسات سابقة تم عزل العديد من المركبات الراتنجية (الزيتية) من أزهار وبذور وجذور النبات بالإضافة الى المادة اللبنية والمركبات المعزولة تنتمي الى المجاميع الكيميائية (sterols, acids,esters,triterpene) ، ففي الوقت الذى عزل فيه مركب Lupeol من المادة اللبنية Pant and Chaturvedi (1989) ومركب β-sitosteol من الأزهار Khan *et al* (1990) وأيضا مركب Linoleic acid من البذور Ansari and Ali (1990) هذا بالإضافة الى مركبات أخرى ، تمكنا في هذه الدراسة من عزل مركبات تنتمي أيضا الى مجموعتى sterol,triterpene من المستخلص الزيتي للمادة اللبنية للنبات جدول (٩) .

٤-٤ عزل وتجزئة Fractionation مركبات الكاردينوليد من نبات العشار

تم تجميع ٢٨ مجزء من مجموع النظام المستخدم ،بمعدل ٢٠٠ مل لكل نظام ، ثم إجراء إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على ألواح ٢٠ x ٢٠ سم بإستخدام نظام مذيب C لتحديد قيم Rf للمركبات في كل مجزء لملاحظة الإختلاف والتشابه والكشف عن المركبات بالرش بجوهر الكشف عن مركبات الكاردينوليد (Kedde reagent) حيث كانت النتائج كالتالى :

- نظام المذيب $CHCl_3$ 100%

المجزءات١-٤ وهو عبار ة عن مادة راتنجية أو زيتية (٤٠ مجم) ولقد أعطى هذا المذيب نتيجة سالبة لإختبار الكشف عن مركبات الكاردينوليد (Kedde negative) . وبإجراء إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على الواح ١٠x٥ سم بنظام مذيب C كانت قيم Rf ٠,٢٥-٠,٨١ مع وجود شوائب وتم الكشف بإستخدام الـ UV-Lamp .

- نظام المذيب $CHCl_3$ 50%/ EtOAC

المجزءات ١٠-١٤ والناتج F_{111} مادة صلبة بيضاء على شكل حبيبات (٣٧ مجم) تذوب بشكل تام في مذيب الكلوروفورم . حيث أعطى النظام نتيجة موجبة لإختبار الكشف عن مركبات الكاردينوليد (Kedde positive) . كما أعطى ٠,٧٢ كقيمة لـ Rf على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ٥x ١٠ سم بنظام مذيب C مع وجود شوائب على شكل (tailing) بالرش بجوهر Kedde وبإستخدام الـ UV-Lamp .

- نظام المذيب EtOAC 100% , $CHCl_3$ 25%/ EtOAC

لقد أعطت المجزءات ١٥-٢٤ في هذين النظامين قيمة واحدة لـ Rf للمركبات وبنظام C بالرش بجوهر Kedde . والتى أعطت نتيجة موجبة للإختبار (Kedde positive) . بعد ذلك تم تجميع المجزءات وتبخيرها إلى حوالى ٢٠٠ مل ، ثم إضافة ٤٠٠ مل من مذيب Petrolum ether الى الكمية المخففة وملاحظة تكون راسب أبيض كثيف ثم عزل الراسب (Precipitate) بكمية ٦٥٣ مجم وهو عبارة عن مادة صلبة بيضاء على شكل حبيبات ولقد أعطى رمز F_{112} ولقد أعطى هذا المجزء ٠,٥١-٠,٥٥-٠,٥٩كقيم لـ Rf على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ٥x١٠ سم بنظام C بإستخدام UV-Lamp والتاكيد بالرش بجوهر Kedde ، الأمر الذى برهن على وجود مركبات الكاردينوليد في المجزء(Kedde positive).

وبإستخدام نظام مذيب D أعطى المجزء قيماً لـ Rf هى ٠,٠٤-٠,١-٠,١٤-٠,١٩-٠,٢٥

أما الراشح (Filterate) فتم معاملته بصوديوم كبريتات لامائي Na_2SO_4 والتبخير تحت تفريغ على درجة حرارة ٤٠ م وكان الناتج مادة صفراء على شكل مسحوق بمقدار ٤٥ مجم حيث أعطى الرمز F_{113} . وهو أيضاً كان موجباً لإختبار الكشف عن مركبات الكاردينوليد (Kedde positive) وكانت قيم Rf للمركبات بنظام مذيب C ٠,٥-٠,٦١-٠,٩١ بإستخدام الـUV-Lamp والتأكيد بالرش بجوهر Kedde .

- نظام مذيب 2- 5% MeOH / EtOAC

وفي هذين المجزئين كانت قيم Rf على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ٥ x١٠سم تساوى صفر وبنظام مذيب C وهو سالب لإختبار الكشف عن مركبات الكاردينوليد (Kedde negative) .

بعد ذلك تم تبخير المجزء الى حوالى ١٥٠ مل ثم تبريده على درجة حرارة ٥م لمدة ٤٨ ساعة معطيا راسباً أصفر اللون (Precipitate) والذى عند عزله أعطى مسحوقاً أصفر صلب عديم الذوبان في جميع المذيبات عدا مذيب (DMSO) بكمية مقدارها ١٥٣جم وبعد أعطى الرمز F_{115} وبإستخدام نظام مذيب B أعطى صفر كقيمة لـ Rf مع وجود شوائب . وبعد إجراء عملية تنقية

Recrystalllation بالميثانول (٥٠ مل) مع الغليان أعطى مسحوقاً أصفر بكمية ٤٠ مجم وكان سالباً لإختبار مركبات الكاردينوليد Kedde negative وبقيمة Rf صفر مع نظام B.

ولقد تمت معاملة الراشح (Filterate) بصوديوم كبريتات لامائي Na_2SO_4 ثم التبخير تحت تفريغ على درجة حرارة ٤٠ م حيث أعطى مسحوقاً أصفر يذوب في الإيثانول بكمية مقدارها ٤٥٩مجم ولقد أعطى الرمز F_{116} ، وهو سالب لإختبار الكشف عن الكاردينوليد (Kedde negative) . وبإجراء إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على ألواح ٥ x ١٠ سم بنظام C أعطى صفر لـRf ، وبإستخدام نظام B أعطى قيم لـ Rf هى ٠,١٦-٠,٣٨-٠,٥٣-٠,٦٧ وذلك بالكشف بإستخدام الـ UV-Lamp .

تجزئة F_{112}, F_{116}:

في محاولة لعزل مركبات بصورة نقية من هذه المجزءات تم إجراء عملية إعادة العزل بالكروماتوغرافيا (rechromatography) وذلك كالتالى :

١. المجزء F_{112} :

تم إستخدام عمود كروماتوغرافيا ٥٠x ٢,٥ سم وبإستخدام نفس السيليكا المستخدمة لعزل الخام الأساسي ، بكمية ٤٠٠ مجم من المجزء / ٣٠ جم سيليكا . وبنظام مذيب مستخدم بناء على عدة أنظمة مختبرة لأعطاء أفضل فصل على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة منها EtOH 5%/ CHCl3 تم إختيار الأنظمة التالية :

EtOH 2--2.25--2.5--2.75/ $CHCl_3$

وذلك بمعدل ٥٠ مل لكل نظام / ٥ مل / ١٠ مجزءات

ولقد بدأت المركبات بالخروج في نظام المذيب EtOH 2.25/ $CHCl_3$ في تداخل شديد يصعب معه تحديد نقاوة المركبات وتحديد قيمة دقيقة لـRf المركبات وذلك بالرش بجوهر الكشف عن مركبات الكاردينوليد Kedde reagent ، بالإضافة الى الكشف بجهاز الـ UV-Lamp وبنظام مذيب D . لم يتم عزل مركبات بصورة نقية .

٢. المجزء F_{116} :

وفيه أيضا تم إستخدام عمود كروماتوغرافي ٥٠ x ٢,٥ سم ومادة الإدمصاص سيليكا جيل المستخدمة في عزل الخام الأساسي ، وذلك بمعدل ٢٠٠ مجم (من المجزء) / ١٠ جم سيليكا مع نظام مذيب :

1--1.5--2-2.5 MeOH/ EtOAC

وذلك بمعدل ٥٠ مل لكل نظام/ ٥ مل / ١٠ مجزءات

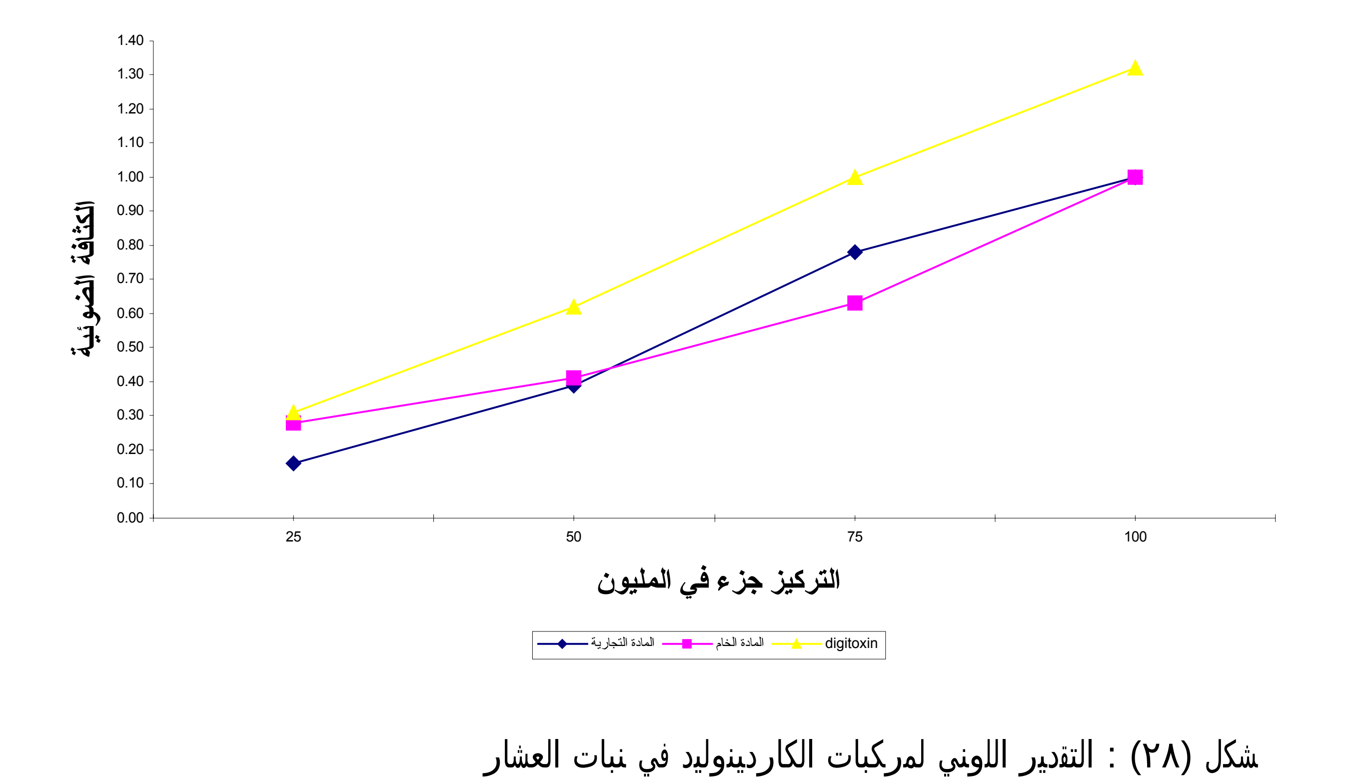
حيث تم الحصول على مركبات بصورة نقية وذلك فقط مع النظام الأخير 2.5 MeOH/ EtOAC لهذا تم إستخدام هذا النظام للوصول الى ٩٠ مجزءاً .

حيث أعطت المجزءات من ٤٥-٥٨ قيم ثابتة لـ Rf على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ١٠x٥ سم والكشف بإستخدام الـUV-Lamp بإستخدام نظام مذيب B تم عزل كمية بسيطة جداً من المركب النقي الذي أعطى ٠,٢١ كقيمة لـRf وكان المركب على شكل مادة راتنجية أو شمعية.

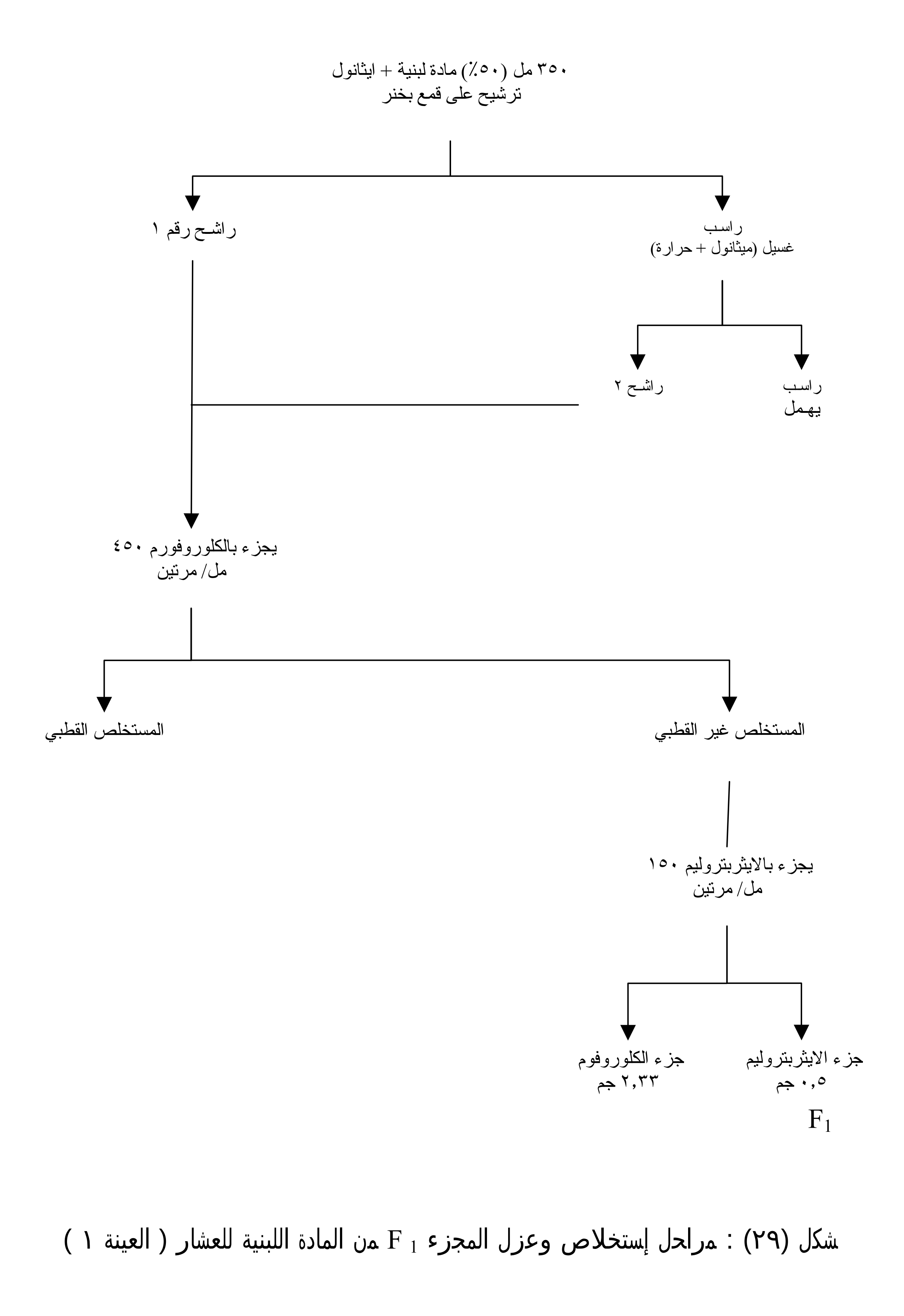
أما المجزءات من ٥٩-٧٠ تم إختبارها على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ٥x ١٠ سم بنظام مذيب B والكشف بإستخدام الـ UV-Lamp حيث تم عزل كمية بسيطة أيضا من المركب النقي بقيمة Rf مقدارها ٠,٣٤ (٣١٢) وكان المركب على شكل مادة راتنجية أو شمعية.

التقدير اللوني لمركبات الكاردينوليد في نبات العشار :

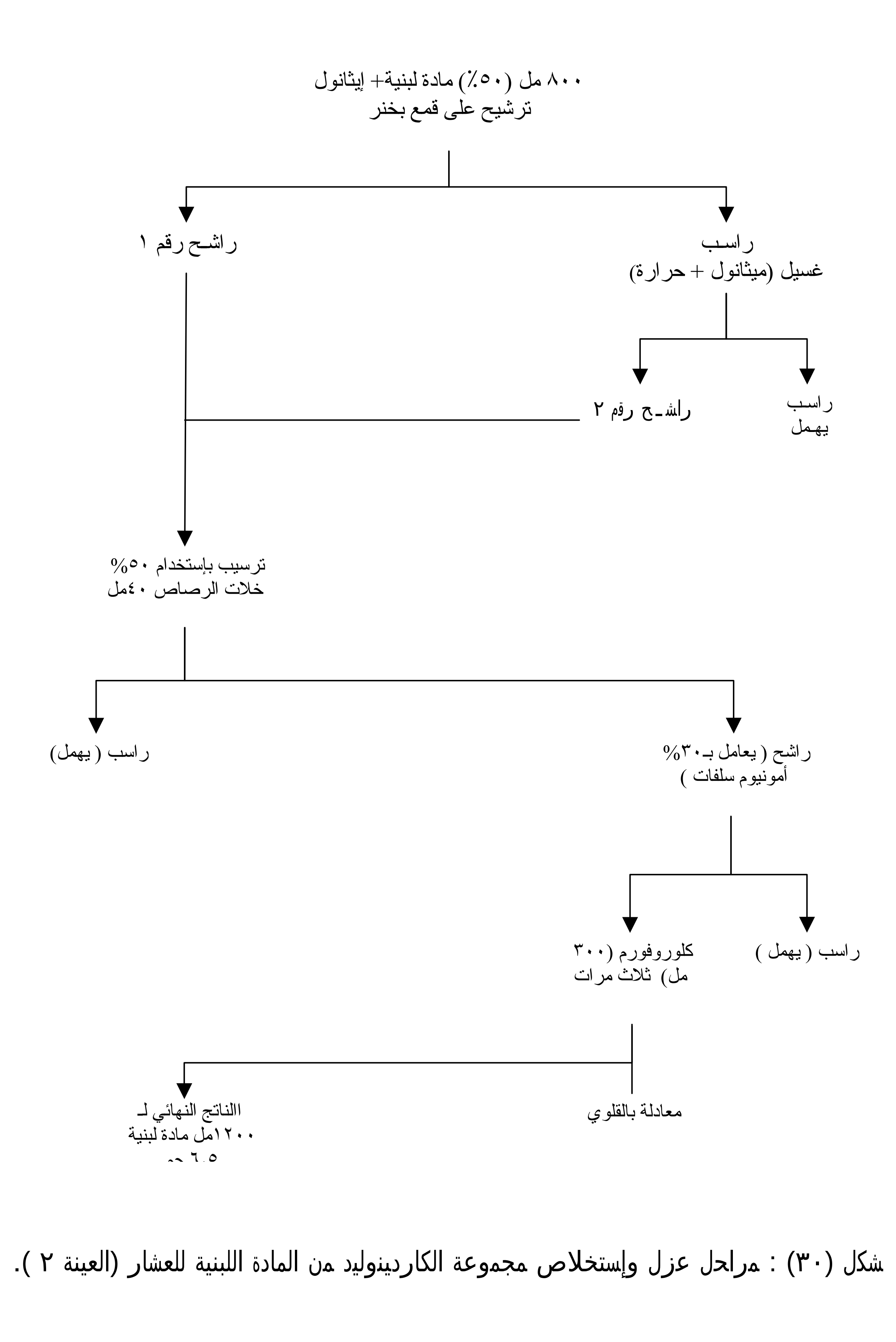
تم في هذا الإختبار تقدير تركيز مركبات الكاردينوليد في العينة النقية (رقم ٢) مع عينة تجارية Sigma extract منسوب الى مركب قياسي Digitoxin حيث وجد أن تركيز هذه المركبات في العينة المعزولة ٧٤,٤٪ اما العينة التجارية ٦٨,٥٪ .



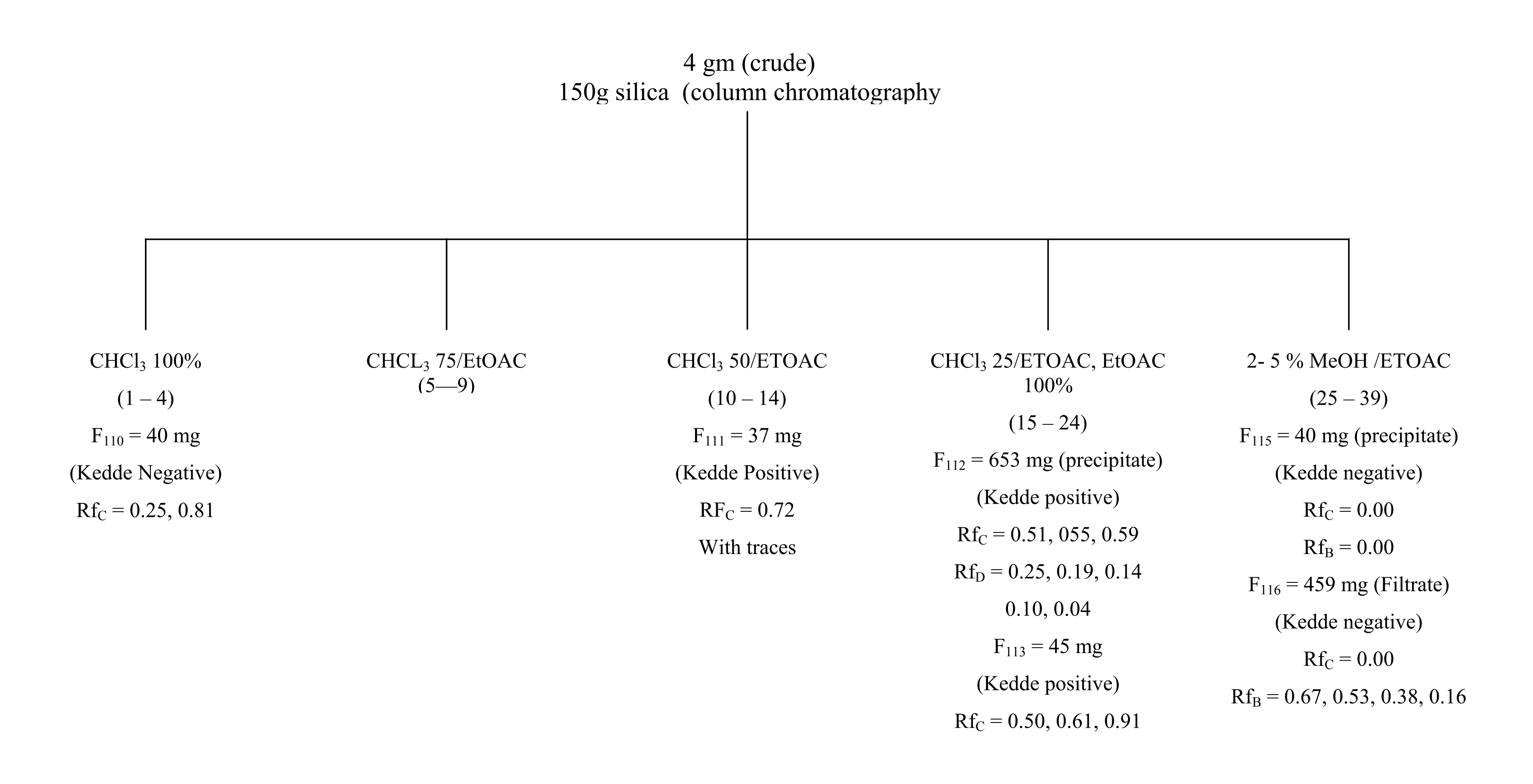
شكل (٢٨) : التقدير اللوني لمركبات الكاردينوليد في نبات العشار



شكل (٢٩) : مراحل إستخلاص وعزل المجزء F_1 من المادة اللبنية للعشار (العينة ١)



شكل (٣٠) : مراحل عزل وإستخلاص مجموعة الكاردينوليد من المادة اللبنية للعشار (العينة ٢).



شكل (٣١): ملخص لتجزيء المادة النقية الخام من العينة رقم ٢ لنبات العشار *C.procera* ..

٤-٥ تجارب التقييم الحيوي :

٤-٥-١ التقييم الحيوي على البكتيريا :

لم تعطى المستخلصات موضع الإختبار (المستخلصات الخام الزيتية لنباتي *J.procera, L.dentata* بالإضافة الى المادة الزيتية المعزولة من الماة اللبنية للعشار F_1 والخام الأساسي النقي لمستخاص المادة اللبنية للعشار) أي فعالية تجاه أي من الأنواع البكتيرية المختبرة المستخدمة وذلك عند التركيز ١٠٠٠ جزء في المليون بطريقة الإختبار (Disc diffusion).

وهذا يختلف مع بعض التجارب السابقة ففي نبات *J.procera* وجد Bonsignore *et al* (1990) فعالية للمستخاص الزيتي لنبات *J.oxycedrus* بتركيز ١٢,٥-٢٥ جزء في المليون تجاه البكتيريا الموجبه لجرام .

كما وجد Akthar *et al* (1992) فعالية مركب Procaregenin المعزول من نبات العشار تجاه الأنواع البكتيرية المختبرة (موجبة-سالبة) لجرام حيث كان أقل تركيز مثبط ١٠٠-١٥٠ مجم .

وفي دراسات أخرى تتوافق نتائجها مع الدراسة الحالية ، وجد Bagci and Digrak (1986) أن المستخاص الزيتي لنبات *J.chinesis* لم يعطى فعالية تجاه أنواع البكتيريا *E.coli, B.subtillus* بالمقارنة مع النباتات الأخرى موضع الإختبار في التجربة .

٥-٥-٢ التقييم الحيوي على الفطريات :

أعطى الإختبار للمستخلصات الزيتية لنباتي *J.procera,L.dentata* بالإضافة الى المجزء المعزول من المادة اللبنية للعشار F_1 والخام الأساسي النقي للمادة اللبنية للعشار فعالية متباينة تجاه أنواع الفطريات المستخدمة عند التركيز ١٠٠٠ جزء في المليون وبطريقة إختبار الطعام المسمم .

حيث أعطى المجزء F_1 أعلى فعالية تجاه فطري (*D.mangiferae*, (82%) *R.solani* (80%) وأقل من ٥٠٪ في باقي الأنواع من الفطريات . أما المادة النقية لنبات العشار فلم تعطى فعالية تجاه أي نوع من الفطريات المستخدمة .

وبالمقارنة مع الدراسات السابقة لنبات العشار *C.procera* نجد أن هنالك بعض الدراسات التى أعطت نتائج إيجابية ضد الفطريات منها دراسة Tanira *et al* (1994) حيث وجد أن ٢ مجم/مل هي أقل تركيز مثبط لفطر *C.albicans* . كما وجد Larhsini *et al* (1997) أن ٢٤-٧٦ جزء في المليون أقل تركيز تثبيطاً لمجموعة من المستعمرات الفطرية . وفي دراسة أخرى متوافقة مع دراستنا الحالية ذكر Shivpuri *et al* (1997) عدم فعالية المستخلص الأيثانولي للعشار عند تركيز ١٠٠٠ جزء في المليون ضد العديد من الفطريات منها *Fusarium oxysporium, Rhizoctonia solani* . بالإضافة الى أن معظم الدراسات تشير الى عدم فعالية مستخلص العشار تجاه الفطريات.

وفي نبات العرعر *J.procera* كانت نتائج الفعالية متقاربة وأقل من ٥٠٪ ضد جميع أنواع الفطريات المستخدمة في الإختبار وذلك عند تركيز ١٠٠٠ جزء في المليون . وفي دراسة أخرى متوافقة مع هذه الدراسة وجد Nirmala *et al* (1988) أن زيت نبات *J.communis* ذو فعالية إبادية عند تركيز ٢٠٠٠ جزء في المليون ، بينما أدى الى تثبيط نمو الجراثيم عند تركيز ١٠٠٠ جزء في المليون . وفي دراسة أخرى Consentino *et al* (2003) لم تثبت فعالية أنواع من جنس Juniperus ضد عدد من الفطريات عند تركيز ٩٠٠ جزء في المليون .

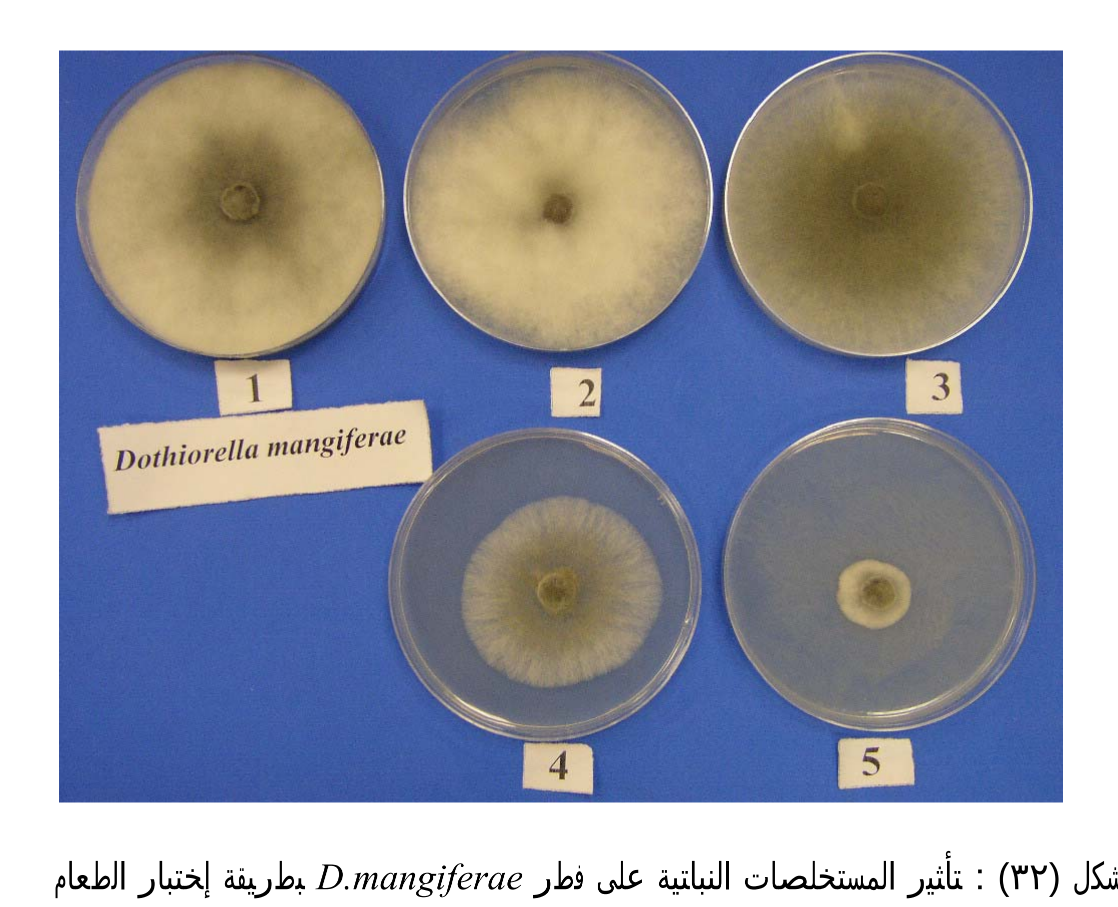
وفي نبات الجتجات *Ldentata* أعطى الإختبار بالتركيز المستخدم نتائج مختلفة أيضاً. بينما كانت فعاليته عالية على فطري (76%) *R.solani*, (69.4%) *P.ultimum* كانت نسبة التثبيط أقل من ٥٠% للأنواع الأخرى من الفطريات . وبالمقارنة مع الدراسات السابقة نجد أن الدراسات على الفطريات قليلة ومنها دراسة Adam *et al* (1998) للمستخلص الزيتي لنبات *L.angustifolia* حيث وجد أن للمستخلص تأثيرات مثبطة وإبادية لبعض الفطريات المسببة للأمراض في الإنسان والجدول (١٠) يبين نسب تثبيط المستخلصات للفطريات.

جدول (١٠) : نسب تثبيط المستخلصات للفطريات.

Fungi	*C.procera* (crude)		*C.procera* F1		*L.dentata* oil		*J.procera* oil		
	cont	1000 ppm	cont	1000 ppm	cont	1000 ppm	cont	1000 ppm	Time (hours)
Fusarium oxysporium(soay bean)	87	85 (2.2)*	87	50 (42.5)	87	47 (46)	87	46 (47)	144
Pythium ultimum (bean)	85	83 (2.3)	85	85 (0)	85	26 (69.4)	85	45 (47)	96
Rhizoctonia solani (eggplant)	83	82 (1.2)	83	15 (82)	83	20 (76)	83	60 (27.7)	168
Dothorella mangiferae (mango)	85	82 (3.5)	85	17 (80)	85	64 (24.7)	85	80 (5.8)	144
Cholora porodoxa (date palm)	85	84 (1.1)	85	79 (7)	85	48 (43.5)	85	60 (29.4)	144
Fusarium proliteratum (date palm)	71	68 (4.2)	71	62 (12.6)	71	41 (42.2)	71	50 (29.5)	192
Phoma glomerata (date palm)	80	78 (2.5)	80	73 (8.7)	80	63 (21.2)	80	69 (13.7)	192

* الأرقام بين القوسين تشير الى النسبة المئوية للتثبيط

الأرقام خارج الأقواس تشير الى قطر النمو الفطرى بالـملم.



شكل (٣٢) : تأثير المستخلصات النباتية على فطر *D.mangiferae* بطريقة إختبار الطعام المسمم

1. Control
2. *C.procera* (crude)
3. *J.procera* (oil)
4. *L.dentata* (oil)
5. *C.procera* (F_1)

٤- ٥-٣ التقييم الحيوي على البعوض :

تم إختبار المجزء F_1 والمعزول من نبات العشار من العينة الأولى والذى أزيح بالبتروليم إيثر على يرقات العمر الثاني متأخر إلى بداية العمر الثالث . حيث كانت قيمة التركيز النصفي القاتل بعد ٤٨ ساعة ٣٠,٠١ جزء في المليون . والجدول (١١) يوضح النسب المئوية للموت للمجزء F_1 ويلاحظ وجود فروق معنوية بين التراكيز عند مستوى معنوية ٠,٠٥ ، ولم تكن هناك دراسات سابقة عن تأثير المركبات من مجموعات Triterpene, Sterols - والتى تم الكشف عنها بجهاز GC/MS في المجزء -المعزول من نبات العشار على البعوض أو غيره من الحشرات الأخرى.

كما ان المجزء المعزول من العينة رقم ٢ للعشار (F_{112}) كان ذو فعالية تجاه نفس الأعمار اليرقية وكان التركيز النصفي القاتل بعد ٤٨ ساعة ١٣,٦٩ جزء في المليون . والجدول (١٢) يوضح النسب المئوية للموت للمجزء F_{112} وفيه لايوجد فروق معنوية بين التراكيز ٣٠،٤٠،٥٠ جزء في المليون لذا يعتبر التركيز ٣٠ جزء في المليون هو أعلى تركيز في الفعالية عند مستوى معنوية ٠,٠٥ . وبالمقارنة مع الدراسات السابقة نجد أن المادة اللبنية أثبتت فعالية تجاه العديد من أنواع البعوض . ففي دراسة Girdhar *et al* (1984) على بعوض *A.labranchiae* كان التركيز النصفي ٢٨ جزء في المليون ، بينما كان التركيز النصفي القاتل ٢٧ جزء في المليون على الطور اليرقي الرابع لبعوض *C.pipiens* Al-Rajhi *et al* (2000)

جدول (١١) : الفعالية الإبادية للمجزء F_1 على الطور اليرقي الثاني للبعوض:

Concentration (ppm)	% Mortality	Mean ± SE
Control	10	1.00 ± 0.57
10	11.1	2 ±1.00 d
20	37	4.33 ± 0.66 c
40	55.5	6.00 ± 0.57 cb
60	74	7.66 ± 0.33 b
80	96.6	9.66 ± 0.33 a
LSD	1.9	
F Value	0.0001	

الأحرف المتشابهة لا تحمل فروق معنوية

جدول (١٢) : الفعالية الإبادية للمجزء F_{112} على الطور اليرقي الثاني للبعوض :

Concentration (ppm)	% Mortality	Mean ± SE
Control	10	1.00 ± 0.99
10	38.8	4.5 ± 0.5 c
20	66.6	7 ± 1.00 b
30	77.7	8.00 ± 0.00 ab
40	94.4	9.5 ± 0.5 a
50	100	10.00 ±0.00 a
LSD	2.23	
F Value	0.0004	

وفي نبات العرعر*J.procera* وجد أن المستخلص الخام للزيت والمعزول من أوراق النبات فعالية على يرقات البعوض لنفس العمر اليرقي وذلك بتركيز نصفي قاتل٨٢,٥٥ جزء في المليون بعد ٤٨ ساعة . هذا ويلاحظ وجود فروق معنوية بين أعلى تركيز ١٠٠ والتركيز ٨٠ عند مستوى معنوية ٠,٠٥ . ولاتوجد أي دراسات سابقة على فعالية زيت العرعر على حشرات البعوض فيما عدا التأثيرات على حشرات النمل الأبيض والمذكورة آنفا والجدول ١٣ يوضح هذه النتائج :

جدول (١٣) : الفعالية الإبادية لمستخلص الزيت لنبات العرعر علىالطور اليرقي الثاني للبعوض

Concentration (ppm)	% Mortality	Mean ± SE
Control	6.6	1.33 ± 0.34
40	14.2	4.00 ± 0.57 c
60	25	6.00 ± 0.57 cb
80	37.5	8.33 ± 0.88 b
100	76.7	15.66 ± 1.20 a
LSD	2.44	
F Value	0.0001	

كما تم تجزىء خام مستخلص زيت العرعر _ كما ذكر سابقا _ بناءً على الفعالية البيولوجية للمستخلص وتم إختبار جميع المجزءات بتركيز موحد ١٠٠ جزء في المليون وتمت المقارنة بين المجزءات وكان أعلى المجزءات فعالية المجزء F_{211} حيث كانت قيمة التركيز النصفي القاتل ٣٩,٥٣ جزء في المليون .

ولقد ذكر Ranaweera and Dayananda (1996) فعالية المجزء المعزول من مستخلص الزيت لنبات *Ceylon citronella* والذى يحوي مركب Elemol كمركب أساسي ضد يرقات الطور الثالث لبعوض *Culex quinquefasciatus* ومن بالجدير بالذكر أن هذا المركب هو المركب الرئيس الذى تم عزله من المجزء F_{211} في بحثنا هذا والذى أعطى أعلى فعالية على البعوض مقارنة بباقي المجزءات والجدول ١٤ يبين هذه النتيجة .

جدول (١٤) : الفعالية الإبادية للمجزء F_{211} على الطور اليرقي الثاني للبعوض :

Concentration (ppm)	% Mortality	Mean ± SE
Control	6.6	0.66 ± 0.33
20	19.23	2.34 ± 0.35d
40	46.4	5.00 ± 0.58c
60	74.9	7.68 ± 0.33b
80	85.6	8.66 ± 0.65ba
100	92.8	9.33 ± 0.66a
LSD	1.57	
F Value	0.0001	

كما يبين الجدول(١٥) قيم التركيز النصفي القاتل للمستخلصات والمجزءات على يرقات العمر الثاني للبعوض .

جدول (١٥) : قيم التركيز النصفي القاتل للمستخلصات والمجزءات على يرقات العمر الثاني للبعوض (٤٨ ساعة) :

	LC_{50} (ppm)	95 % confidence limits	LC_{95} (ppm)	95 % confidence limits	Slope ± SE
Juniper oil	82.55	72.7-99.8	284.2	189.0-698	3.0 ± 0.60
Lavender oil	> 1000				
F_{112}	13.69	7.72-18.29	46.11	33.6-91.18	3.12 ± 0.73
F_{1}	30.01	19.95-38.8	117.06	82.4-238.0	2.78 ± 0.56
F_{211}	39.53	29.5-47.88	117.01	90.9-185.9	3.49 ± 0.63
F_{110}	> 100				
F_{115}	> 100				
F_{116}	> 100				

٤- ٥- ٤ التقييم الحيوي على القواقع :

تم إختبار المجزء F_{112} المعزول من العشار ومقارنة فعاليته بمبيد اللانيت (ميثوميل ٩٠ ٪) حيث كانت قيمة الجرعة النصفية القاتلة للمجزء ٧,٨٩ جزء في المليون مع عدم وجود فروق معنوية بين الجرعات المتتاليه عند مستوى معنوية ٠,٠٥ . وبالمقارنة مع قيمة الجرعة النصفية القاتلة لمبيد الميثوميل ٣٠,٩١ جزء في المليون حيث لم نلاحظ فروق معنوية بين أعلى ثلاث جرعات وأيضا للجرعات الثلاث الأولى . وبهذا تظهر فعالية مركبات الكاردينوليد (المجزء F_{112}) مقابل مبيد اللانيت (ميثوميل٩٠٪) . هذا بالإضافة الى إنعدام فعالية المجزءات F_{115},F_{116} F_1, عند الجرعات المستخدمة والتى لم تعطى نتيجة إيجابية بإختبار الكشف عن مركبات الكاردينوليد وهذا يؤكد فعالية هذه المركبات (الكاردينوليد) على القواقع .

وكانت أعراض التسمم بمبيد اللانيت هي خروج كامل لجسم القوقع (الجسم الرخوي) إلى خارج الصدفة نتيجة التأثير على الأسيتايل كولين أستيريز كما يحدث لبعض القواقع المتأثره بالمبيد إعادة للنشاط والتخاص من تأثير المبيد . أما أعراض التسمم والموت بالمجزءF_{112} _ الذى يمثل مجموعة الكاردينوليد _ فهى مختلفة تماماً وهى خروج منطقة القدم إلى خارج الصدفة ولا يحدث إعادة نشاط للقوقع والشكل (٣٤) يوضح الأعراض السابقة مقارنة بمظهر قوقع سليم (شكل ٣٣).

ولقد تم أيضاً إختبار الزيوت الأساسية لنباتي *J.procera, L.dentata* بتركيز ٢٥٠ مجم/كجم ، والتى لم تعطى فعالية عند هذا التركيز.

ولقد أثبتت الدراسات السابقة فعالية مركبات الكاردينوليد على القواقع حيث وجد Hussien *et al* (1994)فعالية مركب Uscharin على القواقع والذى أعطى جرعة نصفية قاتلة ٠,٨٢ ميكروجرام/قوقع .والجداول ١٦-١٨ تبين فعالية المركبات المعزولة من النبات في هذه الدراسة حيث أعطى المجزء F_{112} المحتوى على مركبات الكاردينوليد فعالية ملحوظة مقارنة بمبيد اللانيت والمجزءات الأخرى التى لم تعطى فعالية نظراً لغياب مركبات الكادينوليد فيها.

جدول (١٦) : الفعالية الإبادية للمجزء F_{112} على القواقع الزراعية (٢٤ ساعة) :

Dose (mg/kg)	% Mortality	Mean ± SE
Control	13.3	1.00 ± 0.57
4.7	29.73	2.33 ± 0.34 c
9.4	64.86	3.00 ± 1.00 cb
14.2	82.36	4.33 ± 0.33 ba
19	94.73	5.00 ± 0.00 a
LSD	1.75	
F Value	0.0035	

جدول (١٧): الفعالية الإبادية لمبيد اللانيت (ميثوميل ٩٠%) على القواقع الزراعية (٢٤ساعة):

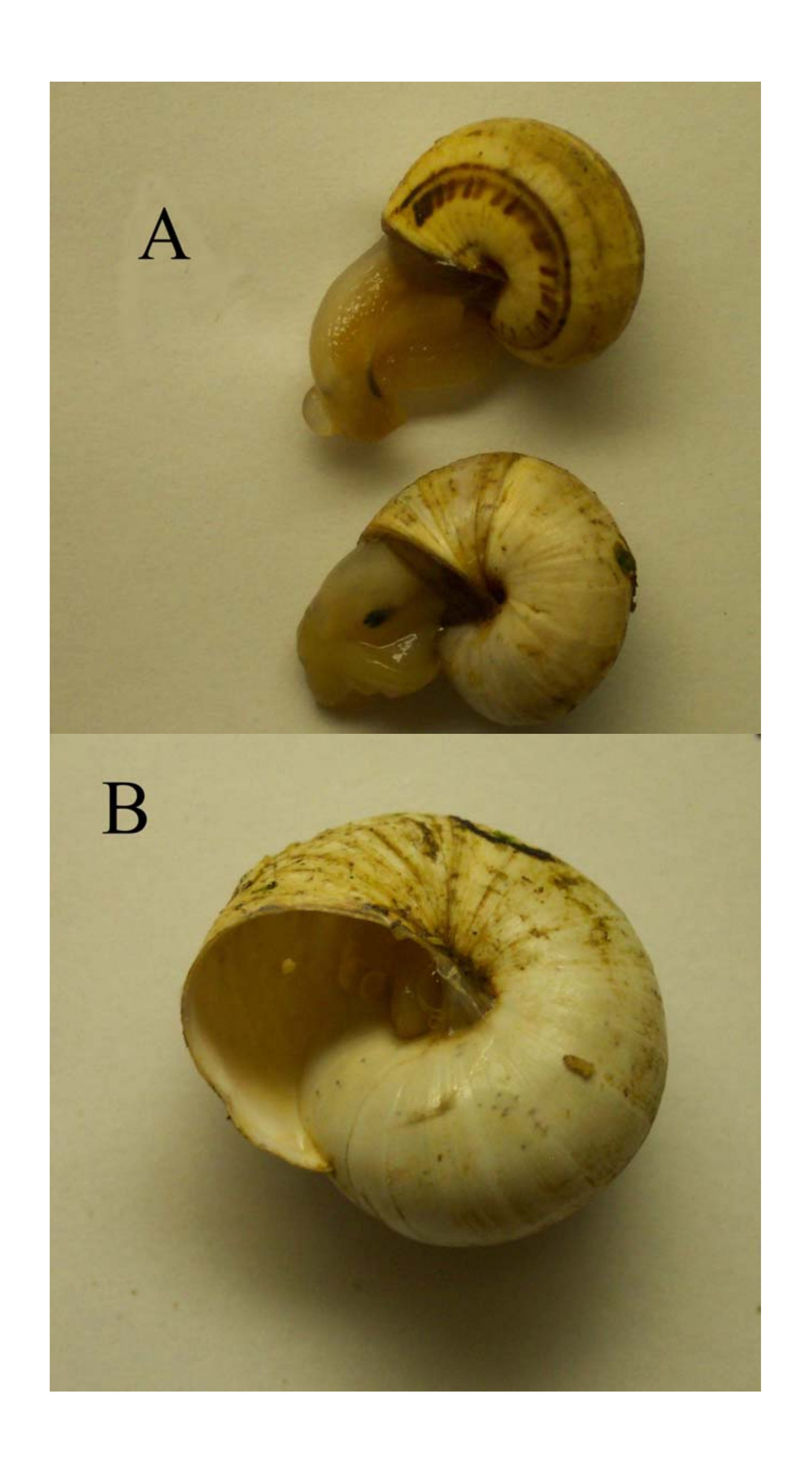
Dose (mg/kg)	% Mortality	Mean ± SE
Control	0	0.00 ± 0.00
14.2	20	1.00 ± 0.00 c
28.5	50	2.5 ± 0.5 cb
57.1	60	3.5 ± 0.5 ba
85.7	70	4.00 ± 1.00 a
114.2	100	5.00 ± 0.00 a
LSD	1.73	
F Value	0.0028	

جدول (١٨) : قيم الجرعة النصفية القاتلة للمجزءات والمستخلصات على القواقع الزراعية :

	LD_{50} (mg/kg)	95 % confidence limits	LD_{95} (mg/kg)	95 % confidence limits	Slope ± SE
Juniper oil	> 250				
Lavender oil	> 250				
F_{112}	7.89	2.7-10.9	20.19	14.3-71.3	4.3 ± 1.4
F_{1}	> 28.5				
Lannett	30.9	17.4-44.7	136.94	82.3-531.2	2.54 ± 0.66
F_{115}	> 28.5				
F_{116}	> 19				



شكل (٣٣) : قوقع سليم من نوع *Thepa pisana*



شكل (٣٤): A: مظهر قوقع من نوع *T.pisana* نتيجة للتعرض لمبيد اللانيت (ميثوميل٩٠٪).

B : مظهر قوقع من نوع *T.pisana* نتيجة للتعرض للمجزء F_{112} .

٤ –٦ إختبارات التقييم السمي:

٤- ٦- ١ إختبار الجرعة النصفية القاتلة LD_{50} على الفئران:

تم إختبار فعالية المجزءات المعزولة من نبات العشار بجرعة واحدة بالحقن داخل الغشاء البريتوني لتحديد فعاليتها مقارنة فيما بينها ، وملاحظة نسب الموت بالإضافة الى أعراض التسمم والموت ، حيث كانت المجزءات التى تحوي مركبات الكاردينوليد أقوى فعالية وهى $F_{111.112.113}$ مقارنة بالمجزءات الأخرى التى لم تعطى نتيجة إيجابية بوجود مركبات الكاردينوليد $F_{110.115.116}$ وهـي أيضـا لم تعطى نسب او أعراض موت وتسمم بالإضافة الى المجزء F_1 والمعزول من العيـنة رقـم ١ والذي لم يعطى أي نسب موت أو أعراض تسمم. وكذلك مستخلص الزيت لنبات العرعـر لم يعطى نسب أو أعراض موت عند الجرعة المستخدمة. والجدول رقم ١٩ يلخص هذه النتيجة.

وتـتوافق جميع أعراض التسمم والموت مع الدراسات السابقة ففي دراسة Sieber *et al* (1983) وجـد أن الحـيوانات المعاملـة يحدث لها بطء في الحركة وصعوبة في التنفس وحركة سـريعة في الأطراف مع أخذ وضع الإنبطاح في منطقة البطن وارتعاشات وبداية الأعراض بعد دقـائق من المعاملة ويصاحب الموت حدوث تشنجات قوية والموت يحدث خلال ساعة ، كما أن الفـئران الـتى أعطت أعراض تسمم ولم تصل الى الموت لاتظهر عليها أعراض مرض خلال الأيام التى تعقب المعاملة . وقد تم ملاحظة جميع هذه الأعراض في هذه الدراسة .

ومن الملاحظ أن الجرعة النصفية القاتلة للمجزء F_{112} بالحقن داخل الغشاء البريتوني كانت ٧,٦ مجم/كجم ، مع ملاحظة عدم ووجد أي فروق معنوية بين أعلى ثلاث جرعات بالإضافة الى ان الجرعة ٥مجم/كجم لم تعطى أعراض تسمم . (جدول ٢٠) .

جدول (١٩) : أعراض التسمم والموت وقيم الجرعة النصفية القاتلة للمستخلصات او المجزءات:

المستخلص /المجزء	الأعراض	الجرعة النصفية القاتلة LD_{50} مجم/كجم
F_{112}	بـدات الأعراض بعد حوالى ٥ دقائق من المعاملة وهـى أعراض شلل وارتعاشات (Convulsion) واضـح في الأرجل الأمامية والخلفية وإرتخاء في مـنطقة الأذنـان وسـرعة في التنفس وأخذ وضع الإنـبطاح (Laying) على منطقة البطن وحدوث المـوت خـلال ١٠دقـائق بقفـز شديد وزيادة في الإرتعاشات بجرعة ٣٠مجم/كجم وتزداد الفترة مع تخفيض الجرعة الى ١٥-٣٥ دقيقة . وقد لوحظ أن الأفـراد الـتى لايحدث لها موت خلال ٢٤ ساعة تعود الى الوضع الطبيعي ولاتظهر أعراض للتسمم عليها .	٧,٦
F_{115}	في البداية تم ملاحظة أعراض تقلصات (Contraction) في منطقة البطن وتلوى شديد ولكن سرعان ماعاد الى الوضع الطبيعي. لا يوجد نسب موت.	٣٠<
F_{113}	مطابق للمجزء F_{112}	٣٠ >
F_{116}	أعطت بعض الأفراد أعراض تسمم وهى إرتعاشات في الأطراف ولكن سرعان ماعاد الى الوضع الطبيعي بالإضافة الى بعض الأفراد لم تعطى أعراض تسمم .	٣٠ <
F_{110}	لا يوجد أعراض تسمم	٣٠ <
F_{111}	مطابق للمجزء F_{112}	٣٠ >
Juniper oil	أعراض خمول شديد مع ترنح وعدم قدرة على الوقوف (وضع تخدير) . لايوجد نسب موت.	١٥٠٠<
F_{1}	لا يوجد أعراض تسمم	١٠٠<

جدول (٢٠) : النسب المئوية للموت والجرعة النصفية القاتلة للمجزءF_{112} على الفئران الصغيرة (Mice) بالحقن داخل الغشاء البريتوني (IP) :

Dose (mg/kg)	% (M)	Mean ± SE
Control	0	0.00 ± 0.00
6	10	0.5 ± 0.49 b
7	40	2.00 ± 1.00 ba
8	70	3.5 ± 0.5 a
10	80	4.00 ± 1.00 a
LSD	2.57	
F Value	0.035	
LD50 (mg/kg)	7.6 (6.68-8.74)	
LD95 (mg/kg)	11.4 (9.5-22.68)	
Slope ± SE	9.35 ± 2.14	

وبمقارنة فعالية المجزء F_{112} والمعزول من نبات العشار بالعينة الزيتية المعزولة من العشار وكذلك المجزء F_{211} والمعزول من نبات العرعر نجد أن هذا المجزء كان ذو فعالية عالية ضد الطور اليرقي الثاني للبعوض بتركيز نصفي قاتل ١٣,٧ جزء في المليون وعلى الفئران بجرعة نصفية قاتلة ٧,٦ مجم/كجم ، مما يبين السمية العالية للمجزء F_{112} على الثدييات مما يجعل أستخدامه مشوباً بالخطر .

٤ -٦-٢ إختبار نشاط الأسيتايل كولين استريز AChE :

المجـزء F_{112}: لم يظهر هذا المجزء أي تأثير على نشاط الإنزيم في مخ الفئران داخل الجسم الحي بجرعة ٢٠ مجم/كجم. وكذلك على القواقع بجرعة ١٩مجم/كجم.

مسـتخاص الزيت لنبات العرعر: لم يظهر أي تأثير للمستخاص الخام للزيت على نشاط الإنزيم داخل الجسم الحي وذلك بتركيز ١٠٠٠ مجم/كجم.

لايوجـد أى دراسـات سـابقة عن تأثير مركبات الكاردينوليد على نشاط الأسيتايل كولين أستريز.

٤-٦- ٣ إختبار نشاط $Na^{+}_K^{+}$ ATPase :

فـي القواقـع لـم يعطـى المجزء F_{112} فعالية داخل الجسم الحي بتركيز ١٩ مجم/كجم ، وخارج الجسم الحي بتركيز ١x ١٠ $^{-٣}$ مولار.

أما في الفئران فقد أعطى المجزء F_{112} فعالية خارج الجسم الحي مقارنةً بمركب Ouabin . ويوضح الجدول (٢١) : فعاليةالـ Ouabain والمجزء F_{112} على نشاط الأنزيم . حيث أعطى كل مـنهما تثبيط للأنزيم يزيد بزيادة الجرعات . ففي حالة أقل تركيز مستخدم للمجزءF_{112} ٢x ١٠ $^{-٤}$ مولار كانت نسبة تثبيط الأنزيم ٤٣,٨٪ مقابل ٤٢,٨٪ لمركب Ouabain أما اعلى تركيز للمجزء F_{112} ١,٢x ١٠ $^{-٣}$ مـولار فقـد أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ مقابل تركيز ١ x ١٠ $^{-٣}$ مولار لمركب Ouabain ، هذا وكان التركيز من المجزء F_{112} اللازم لتثبيط ٥٠٪ من نشاط الأنزيم (I_{50}) ٢,٢x ١٠ $^{-٤}$ مولار.

وفـي حالة الإختبار داخل الجسم الحي فقد نتج عن الجرعات القاتلة المستخدمة نسب تثبيط تتناسـب مع الجرعة حيث أعطت أعلى جرعة (٢٥مجم/كجم) وأقل جرعة (١٠مجم/كجم) ٧٩,٩٪ ٤٠,٤٪ نسـبة تثبـيط علـى التوالى. ويوضح الجدول (٢٢) : تأثير المجزء F_{112} (الذى يمثل مجموعة الكاردينوليد) على نشاط الأنزيم ، وكانت الجرعة اللازمة لتثبيط ٥٠٪ من نشاط الأنزيم (I_{50}) ١١,٧٣ مجـم/كجـم . هـذا ويمكن تفسير هذه النتيجة كون أن المجزء F_{112} يحوى مركبات جليكوسـيدات قلبية تؤثر على نشاط أنزيم الأدينوسين ثلاثي الفوسفاتيز الناقل للصوديوم والبوتاسيوم في المخ.

وقـد ذكـر Al-Robai *et al* (1993b) تأثـير مسـتخاص المادة اللبنية على نشاط الـ ATPase على الكلى بالحقن داخل التجويف البريتوني حيث وجد أن المعاملة أدت الى تثبيط نشاط الأنزيم بتركيز PI_{50}= 5 .

جدول (٢١): نشاط ATPase خارج الجسم الحي على مخ ذكور الفئران الصغيرة (SWR):

Treatment	Total Activity	$Mg^{+2}/Ca+^{2}$ ATPase	Na^{+}/K^{+} ATPase	% inhibition Na^{+}/K^{+} ATPase
Contrlol	903	285	618	-
Ouabain 2×10^{-4} M	638	285	353	42.8
Ouabain 4×10^{-4} M	479	285	194	68.6
Ouabain 6×10^{-4} M	406	285	121	80.4
Ouabin 1×10^{-3} M	285	285	0	100
F_{112} 2×10^{-4} M	632	285	347	43.8
F_{112} 4×10^{-4} M	416	285	131	78.8
F_{112} 1.2×10^{-3} M	285	285	0	100

جدول (٢٢): تأثير المجزء F_{112} على نشاط ATPase داخل الجسم الحي على مخ ذكور الفئران الصغيرة (SWR) :

Treatment	% inhibition based on specific activity
control	0.0
10 mg/kg	40.4
15 mg/kg	65.2
25 mg/kg	79.9

:المراجع

Abdullah, M. A. (2000). Toxicity assessment of *Calotropis procera* and *Zygophyllym simplex* leaf extracts on the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: acridadae). *Arab Gulf Journal of Scientific Research*. 18(3) : 157-164.; 34 ref.

Adam, K.; Sivropoulou, A.; Kokkini, S.; Lanaras, T. and Arsenakis, M. (1998). Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp., *Mentha spietay*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi . *J. of Agricultural and food chemistry* . 46 : 1739-1745.

Adams, H. R. (1995). Digitalis and Vasdilator drugs. In: Veterinary pharmacology and Therapeutics, ed 7 .Adams HR,Ed. Ames, IA : Iowa state University Press. PP 451-481.

Adams, R .P.; McDaniel , C .A. and Balandrin, M.F. (1989). Major antitermitic wood extractive components of eastern reducedar , *Juniperus Virginiana. Material und Organismen* . 24 (4): 301-313: 25 ref.

Adams, R. P. (1990). *Juniperus procera* of East Africa : Volatile Leaf oil composition and putative Relationship to *J. excelsa* . *Biochemical Systematics and Ecology* .. 18.(4). 207-210.

Akthar, N.; Malik , A .; NoorAli, S. and Uroojkazmi, S. (1992). Proceragenin, An antibacterial cardenolide from *calotropis procera* . *Phytochemistry*. 31(8): 2821-2824**.**

Almaqboul, A. Z.; Farouk, A.; Bashir, A. K.; Karim, A. and Salih , M. (1985). Antimicrobial activity of certain Sudanese plants used in folkloric medicine. Screening for antibacterial activity –part III. *Fitoterapia* (2), 103-109.

Al-Rajhi, D, H.; Hussein, H, I.; El-Osta, M, S. and Al, A,G. (2000). Larvicidal and Ovipositional activity of *Calotropis procera* , Meemazal/T and *Eucalyptus spp.* Against *culex pipens* . J. Pest. Cont . Environ. Sci. 8(3): 15-26.

Al-Robai, A, A.; Abo-Katwa, A, N. and Danish, E, Y. (1993a). Toxicological studies on the latex of Usher plant, *Calotropis procera* (Ait) R. Br. in Sudi Arabia. II- ultrastrucural changes in the cardiac muscle and variation in the blood serum composition of treated Albino rats. *Arab Gulf J. Scient . Res.* 11(3):425-440.

Al-Robai, A, A.; Abo-Katwa, A,N. and Danish, E, Y. (1993b). Toxicological studies on the Usher plant, *Calotropis procera* (Ait) R. Br. in Saudi Arabia. III-Effect of Usher latex on the fine structures. Oxgen consumption and Na+/K+_ATPase activity of Albino rat Kidneys. *Arab Gulf J. Scint. Res.* 11(3): 441-455.

Al-Yahya, M, A.; Mossa, M, S.; Tariq, M. and Al-Meshal, I, A. (1986). Phytochemical and pharmacological studies on the toxic plants of Saudi Arabia . IIIrd Am. Symp. Animal, plant and microbial Toxins, Arizona.

Al-Yahya, M, A.; Al-Meshal, I, A.; Mossa, J, S. and Tariq , M. (1985). Phytochemical and pharmacological studies on *Calotropis procera* . III rd Int. Cong. Traditional and Folk Med, Zecatecas, Mexico, Oct.

AL-Yahya, M, A.; Tariq, M.; Al-Meshal, I, A. and Mossa, J,S. (1983). Chemical and Biological studies on Saudi Medicinal Plants. Proc. 43rd Int. Cong. Pharmaceut. Sci (FIP). Montreux, 18.

Amin, M. R.; Shahjahan, M .; El-Taj, H. F.; Iqbal, T. M.T. and Hossain , M. A. (2000). Use of akanda, bistkatali and neem leaves as botanical insecticides against lesser grain borer. *Bangaladesh Journal of Entomology* . 10: 1-13: 13 ref

Angioni, A.; Barra, A.; Russo, M, T.Coroneo, V.; Dessi, S. and Cabras, P. (2003). Chemical composition of the essential oils of Juniperus from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J. Agric. Food . chem*. May 7:51(10) :3073-3078.

Ansari, S, H. and Ali, M. (1999). Phytochemical and pharmacological investigations on *Calotropis procera* Ait. R. Br. *Hamdard*.42: 96-101.

Appel, A, G. and Mack, T, P.(1989). Repellency of miled aromatic eastern red cedar to domiciliary cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae and Blattidae). *J. Econ. Entomol*. 82(1) : 152-155.

Aranson, J, T.; Philogene, B, T, R. and Morand, P. (1989). Insecticides of plant origin . ACS Symposium Series 387. Amer. Chem. Soc., Washington, DC.213 PP.

Atanassova-Shopova, S. and Roussinov, K, S. (1970). On certain central neurotropic effects of lavender oil. *IZV Inst Fiziol*. 13: 69-77.

Awan, M, N.; Javed, N.; Ahmad, R.; Inman, U, I. and Haq, M. (1992). Effect of leaf extract of four plant species on larval mortality of citrus nematode (*Tylenchulus semipenet*) and citrus plant growth. *Pakistan Journal of phytopathology* . 4: 41-45.13 ref.

Bagci, E. and Digrak, M. (1996). The antimicrobial activities of essential oils of some forest trees. *Turkish Journal of Biology*. 20: 191-198. 23 ref.

Bali, H, S.; Singh, S. and Pati, S, C. (1985). Preliminary screening of some plants for molluscicidal activity against two snail species. Indian *Journal of Animal Sciences*. 55 (5) : 338-340.

Bell, E, A.; Fellows, L, E. and Simmonds, M, S, J. (1990). Natural products from plants for control of insect pests. Pp. 337-350.

Benson, J, M.; Sieber, J, N. and Bagley, C, V. et al. (1979). Effects on sheep of the milkweeds *Asclepias eriocarpa* and *A.labriformis* and of cardiac glycosides-containing derivative material. *Toxicon*, 17: 155-165.

Bonsignore, L.; Loy, G.; Seeci, D.; Logu, A.; Patmieri, G, D. and Logu, A. (1990). A preliminary microbiological screening of Sardinian plants. *Fitoterapia*. 61 (4) : 339-341; 6 ref.

Bruschweilier, F,; Stocklin, W.; Stockel, K. and Reichstein, T. (1969b). Glycosides of *Calotropis procera* R.Br.*Helv, Chim, Acta*. 52:2086-2106.

Bruschweilier, F.; Stockel, K. and Reichstein, T. (1969a). Calotropis-glycosides, presumed partial structure. *Helv, Chim, Acta*. 52: 2276-2303.

Chaudhury, .(1992). Efficacy of botanical pesticides against *Plecoptera reflexa* Guen.(Noctudiae: Lepidoptera). *Pakistan Journal of Forestry*. 42 (4) :199-202.

Chen, K, K. (1970). Newer cardiac glycosides and aglycones. *J. Med.. Chem*. 13: 1029-1034.

Chen, K, R.; Bliss, C, I. and Robbins, E, G. (1942). Digitalis-like principles of calotropis compared with other cardiac substances. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 74:223.

Cheung, H, T, A. and Watson, T, R. (1980). Stereochemistry of the Hexosulose in cardenolide Glycosides of the Asclepiadaceae. *J. Chem. Soc. Perkin Trans*. 1 (10) : 2162-2168.

Cheung, H, T, A.; Coombe, R, G.;Sidwell, W, T, L. and Watson, T, R. (1981). Afrosoide a 15 β- hydroxycardenolide. *.J .Chem. Soc. Perkin Trans*. 1: 64-72.

Choi, W, S.; Park, B, S.; Ku, S, K. and Lee, S, E. (2002). Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipens Pallens*. *J. Am. Mosq. Control. Assoc*. 18 (4) : 348-351.

Chungsamarnyart, N.; Ratanakreetakul, C.; Jansawan, W.; Narong-Chungsamarnyart.; Chainarog-Ratanakreetakul.; Weerapol-Jansawan. (1994). Acaricidal activity of the combination of plant crude-extracts to tropical cattle ticks. *Kasetstart-Journal, Natural Science*. 28 (4) :649-660; 11 ref.

Conway, G, R. (1982). Pesticides Resistance and World food production . London, U.K. Imperical college centere for Environmental Technology. PP 144.

Cosentino, S.; Barra, A.; Pisano, B.; Cabizza, M.; Pirisi, F, M. and Palms, F. (2003). Composition and antimicrobial properties of Sardinian Juniperus essential oils against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. *J. Food Port*. 66 (7) :1288-1291.

Crombie, L. (1990). Recent advances in the chemistry of insect control II. Special publication No. 79. Roy. Soc. Chem., Cambridge. PP 296.

Crout, D, H, G.; Curtis, , R, F.; Hassall, C, H. and Jones, T, L. (1963). Cardiac glycosides of *Calotropis procera* . *Tetrahedron Letters*. 63-67.

Cutler, H, G. (1988). Biologicaly Active Natural Products. Potential Use in Agriculture . ACS Symposium Series 380. Amer. Chem. Soc. Washington. DC. PP 483.

Derasari, H, R. and Shah, G, F. (1965). Preliminary pharmacological Investigations of the Roots of *calotropis procera*. *Indian .J. Pharm*. 27(10) : 278-280.

Desheesh, M, A.; Mansee, A, H.; Kassem, F, A.; El-Sebaii, M, A.; El-Shazly, A, M. and Khalifa, M, S. (1997). Identification of cardenolide Uscharin from *Calotropis procera* plant and their rodenticidal activities. *Alexandria Journal of Agricultural Research*. 42 (3) :227-238; 15 ref.

Desta, B. (1993). Ethiopian traditional herbal drugs. Part II : Antimicrobial activity of 63 medicinal plants. *Juornal of Ethnopharmacology*. 39 (2) : 129-139.

Detweiler, D, K. (1967). Comparative Pharmacology of cardiac glycosides . *Fed. Proc*. 26 : 1119-1124.

Doull, J. (1989). Pesticides carcinogenicity : Introduction and Background . ACS. Symp-ser Am Chem Soc. Washngton, D.C. PP 414.

Duffey, S, S. and Scudder, G, G, E. (1972). Cardiac glycosides in North America Asclepiadaceae, a basis for unpalatability in brightly coloured Hemiptera and Coleoptera . *J. Insect. Physiol*. 18 : 63-78.

Dushyent, G.; Bohra, A. and Geholt, D. (1999). Contrl of *Macrophomia phaseolina* by root extracts. *Journal of Eco-physiology*. 21 (1): 15-17; 13 ref.

Dwivedi, S, K. and Kishore, N. (1990). Fungitoxicity of some essential oils against *Macrophomina phaseolina* . *Indian Perfrmer*. 34 (1) : 20-21; 4 ref.

Ellman, G, L.; Courtney, K, D. and Featherstone, R, M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 7 :88-95.

El-Sheikh, H, A.; Ali, B, H.; Homeida, A, M.; Hassan, T.; Idris, O, F. and Hapke, H, J. (1991). The activities of Drug-metabolizing Enzyme in Goats Treated Orally with the Latex of *calotropis procera* and the Influence of Deildrin Pretreatment. *J. Comp. Path*. 104 :257-268.

Figuiredo, A, C.; Barrosa, J, G. and Pedro, L, G. (1995). Composition of the essential oil of *Lavandula pinnata* L. grown on Madeira. *Flavour and Fragrance Journal*. 10: 93-96.

Firoza, K. and Maqbool, M, A. (1996). Nematicidal properties of leaves of some plant species against Helicotyenchus dihystera on tomato. *Pakistan Joural of Nematology* . 14(2) : 107-110.; 11 ref.

Flint, M. and Bosch,R, Van den. (1977). A source book on Integrated Pest Management. Dept. of Health, Education and Walfare. Washington, D.C. PP 392.

Flourens, P. and Gerber, C. (1914b). Physiological action of latex . VII. Acute Intoxication produced by subcutaneous Injection of the Trypsin of *Calotropis procera* int the Guinea pig. Pigen and cold-blooded Animals, Cause of this phenomenon. *Compt. Rend. Soc. Biol*. 75: 497-499.

Gamez, M, J.; Jimenez, J, J.; Navarro, C. and Zazuelo, A. (1990). Study of the essential oil of *Lavandula dentata* . *Pharmazie*. 45(1) : 69-70.; 9 ref.

Gao-CongFen.; Zhang-Xing.; Gao-Cf. and Zhang-X. (1997). The fumigation insecticidal action of the essential oil from seeds of the

sevin juniper (Sabina Vulgaris Ant). *Journal of Najing Agricultural University*. 20 (3): 50-53.; 5 ref.

Garg, Achal. (1979). Effect of AK *Calotropis procera* (Ait) R.Br. Flower extract on Testicular function of the Indian desert Male gerbil *Meriones hurriannae* Jerson: A biochemical and Histological study. Indian *. J. Exp*. *Biol*. 19(9): 859-862.

Gerber, C. and Flourens, P. (1914). Trypsin of *calotropis procera* and poison accompying it. *Compt. Rend*. 157: 600-603.

Girdhar, G. and Santosh, V, P. (1988). Antitermites properties of *Calotropis procera* Latex. *Pesticides* XXI (1): 31-33.

Girdhar, G.; Deval, K.; Mittal, P, K. and Vasudevan, P. (1984). Mosquito control by *Calotropis procera* . *Pesticides* XVIII (10): 26-29>Glycosides of *calotropis procera* R.Br. *Helv, Chim, Acta*. 52: 2086-2106.

Gupta, D, K.; Mohd-Ali. and Bhutani, K, K. (1996). Terpenoids from *Calotropis procera* root bark. *Indian Journal of Chemistry*, *Section B*. 35(10) : 1079-1084.; 19 ref.

Gupta, D, K.; Siddique, I, R. and Singh, J. (2002). New triterpenoids Saponins from the stem of *Calotropis procera* . *Indian Journal of Chemistry. Section B*. 39 (12) :941-945.; 19 ref.

Hesse, G. and Mix, K. (1959). African Arrow Poisons. IX. Structure and Partial Synthesis of Uscharin. *Liebigs Ann. Chem*. 625 :146-156.

Hesse, G. and Reicheneder, F. (1936). African Arrow Poisons Calotropin. *I. Ann*. 526: 252-276.

Hesse, G.; Elibracht and Reicheneder, F. (1941). African Arrow Poisons. III. Crystalline Calotropis Resin. *Ann. Chem*. 546 (3): 233-252.

Hesse, G.; Hauser, L, J.; Hutz . and Reicheneder, F. (1950). African Arrow Poisons. V. Relationships Between the most Important Poisons of *Calotropis procera* . I*. Liebigs.Ann. Chem*. 566: 130-139.

Hesse, G.; Reicheneder, F. and Eysenbach, H. (1939). African Arrow Poisons . II. Heart Poisons in Calotropis Latex. *Liebigs Ann. Chem*. 537: 67-86.

Hink, W. and Liberati, T. (1988). Toxicity of Linalool to life stages of the cat flea, *ctenocephalides felta* (Siphonaptera pulicidae) and its efficacy in capres and on animals. *J. Med. Entomol* 25 :1-4.

Hodgson, E. and Kuhr, R, J. (1990). Safer Insecticides. Development and Use. Marcel Dekker, Inc., New York, NY. PP 592.

Hollman, A. (1985). Plants and cardiac glycosides. Br *Heart . J*. 54 :258-261.

Hosser, S. (1990). Toxicology of selected pesticides, drugs, and chemicals . D-Limonen, Linalool andu crude citrus oil extracts. Veterinary Clinics of North America. *Small Animal Practice*. 28 :383-385.

Hussain, M, A. (1928) . Annual report of Entomoligist to Govt. of Punjab, Lyallpur for the year 1927-1928. Report of Dept of Agric Punjab Lahore, PT II : 57-79.

Hussien, H, I.; Kamel, A.; Abou-Zeid, M; El-Sebae, A, H. and Saleh, M, A. (1994). Uscharin, the most potent molluscicidal compound tested against land snails. *J. Chem.. Eco*. 20: 135-140.

Ignatowicz, S. (1997). Powdered herbs of the mint family (Lamiaceae) as insect repellents for protection of stored wheat grain. *Polskie-Pismo E ntomologiczne*. 66(1-2) : 135-149.; 36 ref.

Ikeda, T.; Nagata, K.; Honda, H.; Shono, T. and Narasha, T. (1998). Insecticidal activity of sikimi extract and its modulation of the $GABA_A$ receptor channel. *Pest Management Science*. 52(4): 337-342.

Immaraju, J, A. (1998). The commercial use of azadiracthin and its integration into viable pest control programmes. *Pest. Sci. Chichester*. 54 (3) :285-289.

Inouye, S. and Yamaguchi, H. (2001). In Vivo absorbtion and safety evaluation of essential oils in mice by continuous vapor contact for a week. *Aroma-Research*. 2 (1) :66-70.; 23 ref.

Jacob, S. and Sheila, M, K. (1993). A note on the protection of stored rice from lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. Fabr. By idigenous plant prducts*. Idian . J. Ent*. 55 (3) :337-339.

Jacobson, M. (1988). Focus on phytochemical pesticides. Vol. 1: The Neem tree. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. 178 pp.

Jacobson, M. (1990). Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. 213 pp.

Jahan, P, S.; Mannan, A.; Khan, A, R. and Karmakar, P. (1991). Insecticidal effect of Akanda (*Calotropis procera*) on *Tribolium confusum* Dural (Coleoptera: Tenebrionidae) . *Bangalades Journal of Zoolgy* 19 (2) : 261-262.

Jain, S, C.; Sharma, R.; Nain, R. and Sharma, R, A. (1996). Antimicrobial activity of *Calotropis procera* . *Fitoterapia*. LXVII. (3): 275-277.

Jain, V.; Dulta, S.; Trivedi, P, C. and Tiagi, B. (1986). Allelochemic effects of some plants on hatching of *M. incognita*. *Indian J. Agric. Sci*. 53 (8) :730-733.

Joubert, J, P, J. (1989). Cardiac Glycosides. In. Toxicants of plants origin Voume 2. Cheeke PR, Ed. Boca Raton. FL: CRC Press. P 61-96.

Kalinovic, I.; Martincic, J.; Rozman, V. and Guberace, V. (1997). Insecticidal activity of substances of plant origin against stored product insects. *Ochrana-Rostlin*. 33(2): 135-142.; 10 ref.

Karamman, I.; Sahin, F.; Gulluce, M.; Sengul, M.and Adiguzel, A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. Apr 85(2-3) : 231-235.

Katzung, B, G. (1987). Basic and Clinical Pharmacology. Appleton and Lange. Third edition . 138-150 p.

Khan, A, O.; Abdul-Malik.; Malik, A. (1989). A steroid from *Calotropis procera* . *Phytochemistry*. 28 (10) : 2859-2861.

Khan, A, O.; Ahmad, Z.; Najm ul-Hussain-Kazmi, S. and Malik, A. (1988). A new pentacyclic triterpene from *Calotropis procera* . *J. Nat*. *Prod*. 51(5) :925-928.

Khan, A, O.; Malik, A. and Qasim-Khan, A. (1990). Phytochemical investigation of *Calotropis procera* . *Fitoterapia*. 61(1): 89.; 8 ref.

Khanna, A, S. (1990). In Vitro studies on some plant extracts as nematicides against *Melodogyne incognita*. *Current nematology*. 2: 199-200.; 8 ref.

Khanna, A, S.; Grewal, P, S.; Sharma . and Sohi, H, S. (1988). Screening of plant extracts for nematicidal action against *Aphelenchoides compsticola* infesting mushroom beds. Indian *Journal of Hill Farming* 1(2) : 41-44.; 8 ref.

Khanvilkar, V, G. (1983). Dept. of Entomology. Konkan Krishi Vidyapeeth, Univ of Dapoli, India. Pres. Commn. In Michae et al., 1985. plant species reportedly possessing pest control properties. An EWC/UH DATA BASE. Univof Hawaii D249.

Khurma, U, R.; and Archana-Singh and Singh, A. (1997). Nematicidal potential of seed extracts : in vitro effects on Juvenile mortality and egg hatch of *Melodogye incognita* and *M.javanica*. *Nematologia-Mediterraneae*. 25(1): 49-54.; 4 ref.

Kingsbury, J, M. (1964). Poisonous plants of the United States and Canada. Englewood Clifts: *Prentice-Hall*, 262-267.

Koch, R. B. (1969). Inhibition of animal tissue ATPase activities by chlorinated hydrocarbon pesticides. *Chem. Biol. Interaction*.1(2): 199-209.

Konstantopoulou, I.; Vassilopoulou, L.; Marragani-Tsipidou, P. and Scouras, Z, G. (1992). Insecticidal effect of essential oils: a study of the effect of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria* . *Experientia*. 48: 616-619.

Kumar, A. and Dutta, G, P. (1987). Indigenous plant oil as Larvicidal agent against *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Current Science India*. 56 (18) : 959-960.; 8 ref.

Kumar, M, S. and Chanhan, U, K. (1992). A study of an antimicrobial activity of *Calotropis procera* leaf extract. *Geobios*. 19(2-3) :135-137.

Lannette, E, H. (1985). Manual of clinical Microbiology. 4th edn, American Association for Microbilogy, Washington, DC, pp. 978-987.

Lappin, G, J.; Stride, J, D. and Tampion, J. (1987). Biotransformation of monoterpenoids by suspension cultures of *Lavandula angustifolia*. *Phytochemistry*. 26: 995-998.

Larhsini, M.; Bonsaid, M.; Lazrek, H, B.; Jong, M. and Amarrouch, M. (1997), Evaluation of antifungal and molluscicidal properties of extract of *Calotropis procera* . *Fitoterapia*. LXVIII 4: 371-373.

Lim, G, S. and Dale, G, B. (1994). Neem pesticides in rice: Potential and limitations. IRRI publ. 69 pp.

Lis-Balchin, M.; Deans, S, G.and Eaglesham, E. (1998). Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 13 (2): 98-104.; 20 ref.

Maga, R.; Broussalis, A.; Clements, S.; Mareggiani, G. and Ferraro, G. (2000). 1.8-cineole: responsible for the insecticides activity of *Lavandula spica* Mill (Lavender) . *Revista-Latinoamericana-de-Quimica*. 28(3): 146-149.; 8 ref.

Mansour, F.; Ravid, V. and Putievsky, E. (1986). Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarins*. *Phytoparasitica*. 4: 137-142.

Markouk, M.; Bekouche, K.; Larhsini, M.; Bousaid, M.; Lazrek, H, B. and Jana, M. (2000). Evaluation of some Moroccan medicinal plant extracts for Larvicidal activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 73 (1-2): 293-297.; 17 ref.

Mcindoo, I. (1982). USDA. Bur. Entomol and PI. Quer pers. Commn. In Michael et al. 1985. plant species reportedly possessing pest control properties. An Ewel UH. Data base Uni. Of Hawaii. P 249.

Meshram, P, B. (1995). Evaluation of some medicinal and natural plant extracts against Teak *Skeletonizer euteetine* machaeralis walk. *Indian Forester* 121(6): 528-532.

Meshram, P, B. (2000). Antifeedant and insecticidal activity of some medicinal plant extracts against *Dalbergia sisso* defoliator, *plecoptera reflexa* Gue. (Lepidoptera: Noctuidae). *Indian Forester*. 126(9): 961-965.' 11 ref.

Migahid, A, M. (1996). Flora of Saudi Arabia. King Saud University Press, Riyadh, Saudi Arabia, 4th Ed.

Morsy, T, A.; Abdel-Rahem, M, A. and Allam, K, A, M. (2001). Control of *Musca domestica* third instar larvae by the latex of *Calotropis procera* (Family: Asclepiadaceae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. 31(1) : 107-110.; 13 ref.

Moursy, L, E. (1997). Insecticidal activity of *Calotropis procera* extracts on the flesh fly *Sarcophaga haemorrhoid* alis Fallen. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. 27(2): 505-514.; 34 ref.

Muhtadi, F, J.; Al-Badr, A, A. and Hassan, M, M, A.(1980). GLC-Mass spectroscopy of *Lavandula dentata* oil. *Spectroscopy Letters*. 13(7) : 437-444.

Nawazisht, N.; Malik, I. and Chugtai, M, I, D. (1979). Antimicrobial activity of *Calotropis procera* –A preliminary study. *Pakistan Journal of Science* XXXI (1-2): 127-129.

Nelson, R, R, S. (1997). In-Vitro of Five plant essential oils against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-resisitant *Enterococcus faecium*. *J. Antimicrobial Chemotherapy*. 40: 305-306.

Nirmala, Kishore.; Singh, S, K.; Dubey, N, K. and Kishore, N. (1988). Fungitoxic activity of essential oil of *Juniperus communis. Indian Perfurmer*. 33 (1): 25-29.; 5 ref.

Oryan, A.; Maham, M.; Rezakhani, A. and Malik, A. (1996). Morphological studies on experimental oleander poisoning in cattle. *Zentralblatt für Vent Med*. 43: 625-634.

Ottoboni, M, A. (1984). The Dose Makes the poison. Vincente Books. Berkely. CA. 222 pp.

Pages, N.; Fournier, G.; Chamorro, G.; Salazar, M.; Paris, M. and Boudene, C. (1989). Teratological evaluation of *Juniperus Sabina* essential oil in mice. *Planta Med*. Apr 55(2) : 144-146.

Panella, N, A.; Karachesy, Y.; Maupin, G, O.; Malan, J, C, S. and Piesman, J. (1997). Susceptibility of immature *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae) to plant derived acaricides. *Journal of Medical Entomology*. 34(3): 340-345.; 37 ref.

Pant, R. and Chaturvedi, K. (1989). Occurance of Lupeol in *Calotropis procera* Latex. *Current Science*. 58(6) :302-303.; 12 ref.

Pantnaik, G, K. and Kohler, E. (1978). Pharmacological investigation on Asclepias- a new cardenolide from *Asclepias curassavica*. *Arznim-forsch/ Drug Res*. 28: 1365-1372.

Parihar, D, R. (1994). Termite management in arid zone of Rajasthan, India. *Pest Management and Economic Zoology*. 2(1): 81-84.; 6 ref.

Parke, D.; Rahaman, k. and Walker, R. (1974). The absorption , distribution and excretion of linalool the rat. Biochemical Society Transaction. 54th Meeting. London. 2: 612-615.

Patel, D, J.; Patel, H, V.; Patel, S, K. and Patel, B, A. (1993). Nematicidal properties of some plant materials for the management of root knot nematode in tomato nursery. *Indian Journal of plant protection*. 21(2): 242-244.; 6 ref.

Perruci, S.; Maecehioni, G.; Cioni, P, C.; Flamini, G.; Morelli, I. and Taccini, F. (1996). The activity of volatile compounds from *Lavandula angustifolia* against *Psoroptes cuniculi*. *Phytotherapy Research*. 10(1) :5-8.; 13 ref.

Pradeep-Michra,; Agrawal, R, K. and Mishra, P. (1989). Some observations on the pharmacological activities of the essential oil of *Juniperus macropoda*. *Fitoterapia*. 60(4): 339-345.; 17 ref.

Prakash, A. and Rao, J. (1997). Botanical pesticides in Agriculture. CRC Pres, Inc., Boca Raton. 460 pp.

Priestley, C, M.; Burgess, I. and Williams, E, M. (1998). Effects of essential oils on house dust mites. *Journal of pharmacy and pharmacology*. 50 : supplement, 193 :2 ref.

Ranaweera, S, S. and Dayananda, K, R. (1996). Mosquto-Larvicidal activity of *Ceylon citronella* (Cymbopogon nardus (L) . Rendle) oil fractions. *Journal of the National Science Council of Sri-Lanka*. 24(4) : 247-252.

Ranvir Pahwa. and Chatterjee, V, C. (1988). Toxicity of Indian *Calotrops procera* RBr latex in the Black Rat, *Rattus rattus* Linn. Vet Hum Toxicol. 30(4): 305-308.

Reddy, P, P. and Khan, R, M.(1990). Management of root-Knot nematodes infesting papya by incorporation of some plants leaves. Presented in National Symposium on problems and prospects of botanical pesticides in integrated pest management at C.T.R.I, Rajahmundry, India. 21-22 Jan., 1990 (Abstract):42.

Reyes Chilpa, R.; Quiroz Vazquez, R, I.; Jimenez Estrada, M.; Navarro Ocana. and Cassani Hernandez, J. (1997). Antifungal activity of selected plant secondary metabolites against *Coriolus versicolor*. Journal of Tropical Forest Products. 3:110-113.

Saber, A, H.; Mahran, G, H. and Rizkallah, M, M. (1968). Sterols and pentacyclic triterpenes of *Calotropis procera* . *Bull. Fac. Pharm*., *Cairo Univ*. 7(1) :91-94.

Schilcher, H. and Leuschner, F. (1997). The potential nephrotoxic effects of essential juniper oil. *Arzneimittelforschung*. Jul. 47(7) :855-858.

Shaaya, E., Ravid, U.; Paster, N.; Juven, B.; Zisman, U. and Pissarev, V. (1991). Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-prodct insects. *Journal of chemical Ecology*. 17(3): 499-504; 6 ref.

Sharma, G, K. (1933). *Calotropis procera* and *Calotropis gigantea*. *Indian. Vent. Jour*. 10(2) :108-121.

Sharma, G, K. (1934). *Calotropis procera* and *Calotropis gigantea*. *Indian. Vent.Sci*. 4:63-74.

Sharma, T, R. and Trivedis, P, C.(1995). Efficacy of some botanicals against *Heterodera avenae* on barley. pressented in National symposium on nematode problemi in India- An appraisal of the nematode management with co-friendly approaches and bio-cmponents. I.A.R.I., New Delhi, 24-26 March, 1995 (Abstract):4.

Sharma, Y. (1983). Effect of aak, *Calotropis procera* on the populatin build up of *Rhyzopertha dominica*. *J. Adv. Zool*. 4(2) :123-124.

Sharma, Y. (1985). Effect of aak Hower on different larval stages of the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *J. Adv. Zool*. 6(1): 8-12.

Sheila, C. (1985). An illustrated Guide to the flowers of Saudi Arabia. Scorpion publishing, LTD. London.

Shivpuri, A.; Sharma,O,P. and Jannaria, S,L. (1997). Fungitoxic properties of plant extracts against pathogenic fungi. *Journal of Mycology and plant pathology*. 27(1): 29-31.; 11 ref.

Sieber, J, N.; Lee, S, M. and Benson, J, M. (1983). Cardiac Glycosides (Cardenolide) in species of Asclepias (Asclepiadaceae). In : Handbook of Natural Toxins, Volume 1, Plant and Fungal Toxins. Keeler RF, TU A, Eds. New York: Marcel Dekker: pp 43-83.

Sieber, J, N.; Nelson, C, J. and Benson, J, M. (1981). HPLC analysis of cardiac glycosides and related steroids. In steroids analysis by HPLC, M. P. Kautsky (Ed), Mercel Dekker, New York. PP. 41-80.

Sieber, J, N.; Nelson, C,J. and Lee, S, M. (1982). Cardenolides in the latex and leaves of seven Asclepias species and *Calotropis procera*. *Phytochemistry*. 21(9): 2343-2348.

Siemens, L, M.; Galey, F, D. and Johnson, B et al. (1995). The clinical, cardiac, and path-physiological effects of oleander toxicity in horses. *J. Vet. Intern. Med*. 9: 217.

Sighamony, S, D.; Aness, I.; Chandrakala, T. and Osmani, Z. (1986). Efficacy of certain indigenous plant products as grain protectants against *sitophilus oryzae* and *Rhyzoperatha dominica*. *J. Stored*. *Prod. Res*. 22(1): 21-23.

Singh, B. and Rastogi, R, P.(1972). Structure of Asclepian and some observation on the NMR spectra of calotropis glycosides. *Phytochemistry*. 11: 757-762.

Srivatava, G, N.; Chakravarti, R, N. and Zaidi, S, H. (1962). Anticoagulant therapy. III In Vitro screening of some Indian plant latexes for Fibrinolytic and Anticoagulant activity. *Indian. J. Med. Sci*. 16: 873-877.

Stassi, V.; Verykokidou, E.; Loukis, A.; Harvala, C. and Philians, S. (1996). The antimicrobial activity of the essential oils of four Juniperus species growing wild in Greece. *Flavor and Fragrance Journal*. 11(1) : 71-74.' 5 ref.

Sundarababu, R.; Sankaranarayna, C. and Vadivelu, S. (1990). Nematode management with plant products. 20 (2): 177-178.; 3 ref.

Sundarababu, R.; Sankaranarayna, C. and Vadivelu, S. (1993). Nematodes management with plant products. *Indian. J. Nematol*. 23(2) :177-178.

Tanira, M, O, M.; Bashir, A, K.; Dib, R; Goodwin, C, S.; Wasfi, I, A. and Banna, N, R. (1994). Antimicrobial and phytochemical screening of medicinal plants of the United Arab Emirates. *Journal of Ethnopharmacology*. 41(1): 201-205.

Verma, A. C. and Anwar, A. (1995). Integrated nematode management by using leaves of medicinal plants in prited gourd. Presented symposium on nematode problems of India – An appraisal symposium on nematode management with eco-friendly approaches and bio-components. I.A.R.I., New Delhi, 24-26. march, 1995(abstract): 18..

Wani, A, H.; Ansari, A, P. and Alam, M, M.(1994). Nematicidal potential of latex extracts of *Calotropis procera* and *Euphorbia*

caducifolia on root knot nematodes infecting okra. *Annals of plant protection Sciences*. 2(1) :72-74.

Ware, G, W. (1980). Complete Guide to Pest Control-with and without Chemicals, Thomson Public., Frenso. CA.290 pp.

Weston, S.; Burgess, I. and Williamson, E. (1997). Evaluation of essential oils and some of their component terpenoids as pediculicide for the treatment of human lice. *J. Pharm. Pharmacol*. 49: 120.

Yadav, S, R, S. and Bhatnagar, N, K. (1987). Preliminary study on the protection of stored cowpea grains against pulse beetle by indigenous plant products. *Pesticides*. 21(8) : 25-29.

Yarnell, E. (1998). Essential oils against lice. Quarterly Review of Natural Medicine. 3: 177-184.

Yurkova, O. (1999). Vegetable aromatic substance influence on oxidative-retoration enzymes state in chronic experiment with animals. Fiziol.Zh. 45:40-43.

Zechner, L. (1954). Ueber Glycosides be Inhaltsstoffe in Asclepiadaceen. *Sci. Pharmaceut*. 22(1/4) :254-259.

Summary

The Plants of *Lavandula dentata*(الجتجات) and *Juniperus procera* (العرعر) are well known as sources of essential oils that contains volatile compounds. Most of these compounds have been proven to induce effects to human, animal and plant pathogens. Beside their activities against insects and other pests such as repellents, pesticides and antifeedants. The advantage of using those oil because, most essential oil posses low toxicity to mammalian. The Usher, *Calotropis procera* latex contains number of cardenolides(cardiac glycosides) which act on heart as specific inhibitors of Na+/K+ transporting ATPase. The plant is toxic to both verterberates and inverterberates, and a wide spectrum of agricultural and medical pests.

Aerial parts of *J.procera* and *L.dentata* were subjected to boiling water distillation. The yield were (1.2% w/w for *J.procera* and 1.4% w/w for *L.dentata*). The volatile oil were analysed by GC/MS. Twenty seven components were identified in the crude volitile oil of *J.procera* . These were mainly composed of monoterpenoids (52.59%) and sesquiterpenoids(40.86%) . The major compounds were α-pinene (22.7%), carene(21%), α-Humelene(12.4%), α-caryophyllene(10.2%) and Germacrene-D(9.7%). On the other hand, twenty six components were identified in the volatile oil of *L.dentate.* These were mainly composed of monoterpenoids (68.9%) and sesquiterpenoids (3.96%) .The major compounds were camphor (45%) and α-fenchone(13.4%). The fraction F_{211} was isolated from *J.procera* by Low Preesure Liquid Chromatography (LPLC) and four compounds were identified as sesquiterpenes. These were Elemol(51.6%), γ-Eudesmol(15.9%), β-Eudesmol(13.2%), and α-Eudesmol(19.2%). The petroleum fraction of *C.procera* F_1(sample 1) was analysed by GC/MS giving nine compounds. These were Linoleic acid,_ α-Tocopherol, D:C-Friedoolean-8-en-ol, Erogost-5-en-3,β-ol, β-Sitosterol, Stigmasta-5,24(28)-dien-3,β-ol,(E), Lup-20(29)-en-3-one, Cycloeucalenol, Lupeol. From sample two of *C.procera*, $F_{111,112,113}$ Fractions were

isolated by column chromatography and have shown by kedde's test (as positive Kedde) as they contain cardenolides , while the others, ($F_{110,115,116}$) were negative Kedde.

Regarding the antimicrobial activity, all extracts and F_1 did not possess any antibacterial activities at 1000 ppm. The highest active antifungal against *R.solani* was F_1 that gave 82% inhibition. However, the other extracts (juniper and lavender oil) exerted less than 80% inhibition at 1000 ppm..

In regards of the LC_{50} values against *Culex pipiens* larvae (2 instar) for all extracts and fractions, the crude oil of *J.procera* was the least active with LC_{50}= 82.5 ppm, while fraction F_{211} that isolated from crude oil was the most active with LC_{50}= 39.5 ppm, compared to other fractions, using bioactivity guided fractionation . The fractions $F_{1,\ 112}$ that was isolated from *C.procera* latex gave LC_{50} values of 30 and 13.6 ppm respectively. The LC_{50} values of $F_{110,115,116}$ farctions more than 100 ppm while, it was more than 1000 ppm for Lavender oil.

Only fraction F_{112} that was active on Land Snail *Thepa pisana* with LD_{50}= 7.8 mg/kg . $F_{1,115,116}$ fractions, Lavender and Juniper oil did not show any activity against the snail at 28.5,28.5,19,250,250 mg/kg respectively.

General toxicological investigations were performed using all extracts. $F_{111.112.113}$ Fractions that contain cardenolides were active with dose less than 30 mg/kg (Interaperitonial Injection), while LD_{50} of F_{112} was 7.1 mg/kg . Toxication symptoms were convulsions, irregular respiration and laying. Staggering was present and death took place within 15-35 minutes after injection. On the other hand, the LD_{50} values of $F_{1,110,115,116}$ were more than 100-30-30-30 mg/kg respectively, while it was more than 1500 mg/kg for Juniper oil .

However, the fraction F_{112} had no effect on Acetycholiesterase activity for both mice and land snail at 20-19 mg/kg, respectively. At the same time, Juniper oil had no effect on enzyme activity at 1000

mg/kg in vivo. The I_{50} values of F_{112} on mice brain ATPase were $2.2x10^{-4}$ M and 11.73 mg/kg in the in vitro and In Vivo studies respectively. On the other hand, F_{112} at 19 mg/kg (in vivo) and $1x10^{-3}$ M (in vitro) did not inhibit the enzyme activity.

Kingdom of Saudi Arabia
Ministry of Higher Education
King Saud University
College of Food sciences and Agriculture

Pesticidal and Toxicological Effects of Extracts from *Calotropis procera* ,*Juniperus procera* and *Lavandula dentata* Growing in Saudi Arabia

Thesis
Submitted to plant protection Department in Partial Fulfilment for the Requirements of the Degree of Master in Pesticide Science

By
Hattan A. Al-Harbi

Supervisor
Prof. Dr.DeifAlla H. AL-Rajhi
Prof. of Toxicology
college of Food sciences and Agriculture

(1425-2004)